

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

KEVIN ALVES ANTUNES

ANÁLISE FARMACOBOTÂNICA E QUÍMICA DE ESPÉCIES DE CARQUEJA (sect.
Caulopterae e *Aphyllae*), VISANDO O CONTROLE DA QUALIDADE DA MATÉRIA-
PRIMA

PONTA GROSSA

2026

KEVIN ALVES ANTUNES

ANÁLISE FARMACOBOTÂNICA E QUÍMICA DE ESPÉCIES DE CARQUEJA (*sect.*
Caulopterae e Aphyllae), VISANDO O CONTROLE DA QUALIDADE DA MATÉRIA-
PRIMA

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos, medicamentos e biociências aplicadas à Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste.

Orientadora: Profa. Dra. Jane Manfron.

PONTA GROSSA

2026

Antunes, Kevin Alves

A636 Análise farmacobotânica e química de espécies de carqueja (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*), visando o controle da qualidade da matéria-prima / Kevin Alves Antunes. Ponta Grossa, 2026.
127 f.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Jane Manfron.

1. Adulteração. 2. Anatomia. 3. Asteraceae. 4. CCDAE. 5. Microscopia. I. Manfron, Jane. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 615.321

KEVIN ALVES ANTUNES

**ANÁLISE FARMACOBOTÂNICA E QUÍMICA DE ESPÉCIES DE
CARQUEJA (SECT. CAULOPTERAE E APHYLLAE), VISANDO O
CONTROLE DA QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA**

Tese apresentada para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, nível Doutorado,
Associação Ampla entre a Universidade Estadual
de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do
Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 29 de abril de 2026.

Documento assinado digitalmente
 **JANE MANFRON**
Data: 29/05/2026 09:56:30-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. JANE MANFRON – UEPG – Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MARTA REGINA BARROTT DO CARMO**
Data: 28/05/2026 19:17:51-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. MARTA REGINA BARROTT DO CARMO – UEPG – Membro titular interno

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIO LUIS BELTRAME**
Data: 27/05/2026 16:04:15-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. FLÁVIO LUIS BELTRAME – UEPG – Membro titular interno

Documento assinado digitalmente
 **GUSTAVO HEIDEN**
Data: 27/05/2026 15:55:24-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. GUSTAVO HEIDEN – EMBRAPA/RS – Membro titular externo

Documento assinado digitalmente
 **ROBERTO PONTAROLO**
Data: 27/05/2026 21:00:45-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. ROBERTO PONTAROLO – UFPR – Membro titular externo

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF
Bloco M Sala 93 B – Campus Universitário – Fone (42) 2102-8937
Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – CEP: 84030-900 – PONTA GROSSA – PR – BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por me proporcionar essa oportunidade de realizar o doutorado, dando força e paciência para alcançar meus objetivos;

Ao meu pai Sérgio e mãe Sandra que sempre estiveram ao meu lado e me apoiando tanto no âmbito emocional quanto no financeiro;

À minha irmã Danny e ao meu irmão Renan, que mesmo morando em outra cidade, me apoiaram em cada etapa;

À Cindy, que segue comigo até hoje trazendo alegria, e aos amigos de quatro patas que partiram durante esta jornada, mas deixaram saudades e boas lembranças;

À minha orientadora Profa. Dra. Jane Manfron, que sempre esteve presente para tirar qualquer dúvida que surgisse, auxiliando profissionalmente, mas também pessoalmente;

Ao Prof. Dr. Gustavo Heiden, que auxiliou na coleta e identificou as espécies analisadas neste trabalho;

Ao Dr. Wilmer Perera, que realizou as análises das amostras por CCDAE;

A esta Universidade, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, ao C-Labmu, ao corpo docente, técnicos, direção e administração, que oportunizaram as ferramentas para aprofundar meus conhecimentos;

Aos meus amigos, que foram fundamentais para o desenvolvimento dessa pesquisa com tranquilidade e bom convívio;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

*Deus é grande, Deus é forte. Quando ele quer, não
tem quem não queira.*

(Ayrton Senna)

RESUMO

As espécies de *Baccharis* popularmente conhecidas como “carquejas” apresentam ampla utilização medicinal e expressiva relevância comercial no Brasil. No entanto, a elevada similaridade morfológica entre essas espécies, associada ao uso compartilhado da mesma denominação popular, favorece erros de identificação, substituições botânicas e adulterações, comprometendo a autenticidade e a qualidade de drogas vegetais e produtos derivados. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo realizar a análise farmacobotânica e química de nove espécies de *Baccharis* pertencentes às seções *Caulopterae* e *Aphyllae*, a saber: *Baccharis articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*, visando estabelecer marcadores botânicos e químicos aplicáveis ao controle da qualidade de produtos comercializados como carqueja. Para isso, foram realizadas análises morfoanatômicas, histoquímicas, ultraestruturais e elementares por microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva de raios X, além da obtenção de perfis cromatográficos por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) para as espécies de referência e para as 15 amostras comerciais. Os resultados demonstraram que, apesar da similaridade morfológica entre as espécies, a integração de caracteres anatômicos qualitativos e quantitativos permitiu sua diferenciação segura e consistente. Entre os marcadores diagnósticos de maior relevância destacaram-se os tipos de tricomas, os padrões cuticulares, a presença ou ausência de corpos oleosos no clorênquima, a distribuição e morfologia dos cristais, a presença de colênquima subepidérmico na borda das alas, bem como o índice e as dimensões estomáticas. A CCDAE revelou perfis cromatográficos distintos para todas as espécies analisadas, confirmando elevado potencial discriminatório e reforçando a utilidade da associação entre marcadores microscópicos e químicos para fins de autenticação. A análise das amostras comerciais evidenciou importante discrepância entre a espécie farmacopeica de referência e o material efetivamente comercializado, uma vez que apenas uma das 15 amostras avaliadas apresentou perfil cromatográfico compatível com *B. trimera*, enquanto a maioria exibiu perfil correspondente à *B. milleflora*. Adicionalmente, 60% das amostras analisadas apresentaram teor de matéria estranha acima do limite farmacopeico, indicando baixa conformidade da matéria-prima disponível no mercado. Conclui-se que a autenticação de carquejas exige análise de múltiplos parâmetros, baseada na integração entre farmacobotânica e perfil químico, e que os dados obtidos fornecem subsídios concretos para o aprimoramento do controle da qualidade, para a detecção de substituições botânicas e para o fortalecimento da segurança e da padronização de matérias-primas vegetais comercializadas como carqueja.

Palavras-chave: Adulteração; Anatomia; Asteraceae; CCDAE; Microscopia; Plantas medicinais.

ABSTRACT

Species of *Baccharis* popularly known as “carquejas” are widely used as medicinal plants and commercially relevant in Brazil. However, their marked morphological similarity, combined with the shared use of the same vernacular name, favors misidentification, botanical substitution, and adulteration, thereby compromising the authenticity and quality of herbal raw materials and derived products. In this context, the present study aimed to perform a pharmacobotanical and chemical analysis of nine *Baccharis* species belonging to sect. *Caulopterae* and sect. *Aphyllae*, namely *Baccharis articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis*, and *B. trimera*, in order to establish botanical and chemical markers applicable to the quality control of products marketed as carqueja. Morphoanatomical, histochemical, ultrastructural, and elemental analyses were performed using light microscopy, scanning electron microscopy, and energy-dispersive X-ray spectroscopy, in addition to chromatographic profiling by high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) for the reference species and for the 15 commercial samples. The results showed that, despite the pronounced morphological convergence among the studied species, the integration of qualitative and quantitative anatomical characters enabled their reliable and consistent differentiation. The most relevant diagnostic markers included trichome types, cuticular patterns, the presence or absence of oil bodies in the chlorenchyma, crystal morphology and distribution, the occurrence of subepidermal collenchyma at the wing margin, as well as stomatal index and stomatal dimensions. HPTLC analysis revealed distinct fingerprints for all investigated species, confirming a high discriminatory capacity and reinforcing the usefulness of combining microscopic and chemical markers for authentication purposes. The analysis of commercial samples revealed a marked discrepancy between the pharmacopeial reference species and the material actually marketed, since only one out of 15 samples showed a chromatographic profile compatible with *B. trimera*, whereas most samples displayed a profile corresponding to *B. milleflora*. In addition, 60% of the analyzed samples showed foreign matter levels above the pharmacopeial limit, indicating poor compliance of the plant material available on the market. In conclusion, the authentication of carquejas requires a multiparametric approach integrating pharmacobotanical and chemical profiling, and that the data generated herein provide concrete support for improving quality control, detecting botanical substitutions, and strengthening the safety and standardization of herbal products marketed as carqueja.

Keywords: Adulteration; Anatomy; Asteraceae; HPTLC; Microscopy; Medicinal plants.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO DA LITERATURA	12
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	12
3.2 FAMÍLIA ASTERACEAE Bercht. & J.Presl	12
3.3 GÊNERO <i>Baccharis</i> L.	13
3.4 CONTROLE DA QUALIDADE	16
3.4.1 Análises macro e microscópicas	17
3.4.2 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE)	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 MATERIAL VEGETAL	19
4.1.1 Amostras comerciais	20
4.1.2 Preparo para a microscopia de luz	20
4.1.3 Micromedidas	21
4.1.4 Análises histoquímicas	21
4.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	22
4.1.6 Espectroscopia de raio x por energia dispersiva (EDX)	22
4.1.7 Elaboração de chave dicotômica	22
4.1.1 Distinção morfoanatômica entre as seções <i>Caulopterae</i> e <i>Aphyllae</i>	23
4.2 PESQUISA DA MATÉRIA ESTRANHA	23
4.3 CROMATOGRAPHIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)	23
4.3.1 Reagentes, placa e equipamentos	23
4.3.2 Amostras e padrões de identificação	24
4.3.3 Método de identificação e validação do método	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 MORFOANATOMIA DOS CLADÓDIOS	29
5.2 ANÁLISE HISTOQUÍMICA	43
5.3 ANÁLISE DOS CRISTAIS	46
5.4 ANÁLISE DAS FOLHAS DE <i>Baccharis junciformis</i>	52
5.5 CHAVE DICOTÔMICA	54

5.6	DISTINÇÃO MORFOANATÔMICA ENTRE AS SEÇÕES <i>Caulopterae</i> E <i>Aphyllae</i>	54
5.7	ANÁLISE DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)	55
5.7.1	Método de identificação e validação do método	55
5.8	CONTROLE DA QUALIDADE DE AMOSTRAS COMERCIAIS	108
5.8.1	Pesquisa de matéria estranha	108
5.8.2	Análise microscópica	111
5.8.3	Cromatografia em camada delgada de alta eficiência	112
6	CONCLUSÃO	117
	REFERÊNCIAS	119

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma das formas mais antigas de práticas terapêuticas, associada historicamente à prevenção e ao tratamento de enfermidades. Atualmente, observa-se um maior interesse pela pesquisa etnofarmacológica de plantas medicinais especialmente na validação científica de usos tradicionais e na padronização de matérias-primas vegetais (Carneiro *et al.*, 2020; Machado *et al.*, 2021). Na produção de fitoterápicos, a qualidade é um requisito central e o controle da qualidade de drogas vegetais deve ocorrer ao longo de toda a cadeia produtiva, iniciando-se pela identidade botânica inequívoca, seguida por especificações morfoanatômicas e químicas reprodutíveis (Manfron, 2021; Manfron *et al.*, 2022).

Um dos dez gêneros mais representativos da família Asteraceae é *Baccharis* L. com cerca de 436 espécies aceitas de árvores, arbustos, lianas e subarbustos (Fernandes, Oki, Barbosa, 2022; Heiden; Bonifacino, 2021; Powo, 2026). No Brasil, 180 espécies são encontradas nos biomas Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, estando bem distribuídas em todas as regiões brasileiras (Heiden, 2026). Essa amplitude de distribuição, aliada à diversidade morfológica do gênero, contribui para desafios de identificação em cadeias de coleta e comércio.

O gênero *Baccharis* foi dividido recentemente em sete subgêneros e 47 seções com base em uma reconstrução filogenética. As carquejas pertencem a duas seções filogeneticamente distintas, porém morfológicamente convergentes, principalmente sect. *Caulopterae* (15 espécies) e sect. *Aphyllae* (35 espécies) (Heiden; Antonelli; Pirani, 2019). Os próprios autores destacam que a convergência morfológica, sobretudo em táxons com caules alados, reforça a necessidade de estudos morfoanatômicos e micromorfológicos para diagnóstico e delimitação.

Muitas espécies de *Baccharis* com caules e folhas são conhecidas como “vassouras”; as demais com caules alados ou cladódios são chamadas de “carquejas”. Essa denominação vernacular, aplicada a múltiplas espécies morfológicamente semelhantes, favorece o uso intercambiável e a substituição não intencional de matérias-primas (Budel *et al.*, 2018a; Manfron *et al.*, 2022).

Os nomes populares são amplamente empregados pela população e têm se mantido por muitas gerações. Esses nomes estão geralmente relacionados às atividades farmacológicas, características morfológicas, cultura regional ou ainda origem geográfica da espécie. Um mesmo nome popular pode designar espécies distintas e uma mesma espécie pode apresentar múltiplos nomes populares, dependendo da localidade.

Esse cenário contribui para adulteração e/ou substituição de drogas vegetais por espécies morfológicamente similares ou denominadas pelo mesmo nome comum, comprometendo identidade, consistência química e desempenho terapêutico (Machado *et al.*, 2021; Manfron *et al.*, 2022). Além de reduzir a eficácia, a substituição pode envolver partes vegetais inadequadas, materiais de baixa qualidade ou espécies com perfil de segurança desconhecido, ampliando o risco sanitário (Antunes *et al.*, 2023; Bochner *et al.*, 2012). Sob a perspectiva regulatória, esse risco reforça a centralidade da identidade da matéria-prima vegetal e da constância de qualidade no desenvolvimento e na regularização de fitoterápicos, conforme estabelecido no marco regulatório vigente (Anvisa, 2025). Dessa forma, a combinação de alta diversidade específica, convergência morfológica e nomenclatura vernacular compartilhada torna o complexo “carquejas” particularmente vulnerável a erros de coleta, identificação e comercialização (Manfron *et al.*, 2022).

Considerando que as carquejas estão entre as plantas medicinais amplamente comercializadas no Brasil e que a elevada diversidade específica, associada à similaridade morfológica e à nomenclatura popular compartilhada, favorece erros de identificação e substituições, este trabalho teve como objetivos analisar características morfológicas, microscópicas e histoquímicas e estabelecer perfis cromatográficos por cromatografia em camada delgada de alta eficiência de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., *Baccharis jocheniana* G. Heiden & Macias, *Baccharis junciformis* DC., *Baccharis milleflora* (Less.) DC., *Baccharis myriocephala* DC., *Baccharis pentaptera* (Less.) DC., *Baccharis riograndensis* Malag. & J. Vidal, *Baccharis subtropicalis* G. Heiden e *Baccharis trimera* (Less.) DC., visando definir marcadores botânicos e químicos das espécies aplicáveis ao controle da qualidade; além de verificar a presença desses marcadores botânicos e químicos em amostras comerciais adquiridas no comércio de Ponta Grossa (Paraná, Brasil) e no comércio online dos Estados Unidos, avaliando a conformidade e o risco de substituição/adulteração em produtos rotulados como “carqueja”.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos morfoanatômicos e histoquímicos comparativos de nove espécies de *Baccharis*: *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., *Baccharis jocheniana* G.Heiden & Macias, *Baccharis junciformis* DC., *B. milleflora* (Less.) DC., *B. myriocephala* DC., *B. pentaptera* (Less.) DC., *B. riograndensis* Malag. & J.Vidal, *Baccharis subtropicalis* G.Heiden e *B. trimera* (Less.) DC., bem como avaliar a autenticidade de amostras comerciais rotuladas como “carqueja”, visando estabelecer marcadores diagnósticos e subsidiar o controle da qualidade da matéria-prima vegetal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar morfoanatomicamente os cladódios de *B. articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*, identificando caracteres diagnósticos comparativos aplicáveis à diferenciação das espécies;

Mapear a distribuição tecidual de classes químicas relevantes dos cladódios de todas as espécies;

Analisar as características ultraestruturais de cladódios de todas as espécies, com ênfase em caracteres epidérmicos e estruturas secretoras e cristalíferas;

Avaliar a composição química elementar dos cristais presentes em todas as espécies, comparando padrões elementares entre espécies e discutindo implicações diagnósticas;

Obter perfil cromatográfico dos extratos de cladódios das espécies estudadas, definindo perfis de referência e potenciais marcadores químicos para autenticação;

Verificar a presença dos marcadores botânicos e químicos definidos no estudo em amostras comerciais adquiridas no comércio de Ponta Grossa (Paraná, Brasil) e no comércio online dos Estados Unidos, avaliando autenticidade, não conformidades e indícios de substituição/adulteração;

Propor um conjunto mínimo de critérios (botânicos e cromatográficos) para aplicação em rotinas de controle da qualidade de drogas vegetais e produtos derivados rotulados como “carqueja”.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais é uma prática ancestral, na qual o conhecimento adquirido pelas civilizações foi passado por gerações, continuando até os dias atuais, com implicações culturais, sanitárias e científicas (Veiga Junior *et al.*, 2005). Devido à extensa biodiversidade e à forte influência dos conhecimentos dos povos originários, dos conquistadores e colonos europeus e dos africanos escravizados, o uso de espécies medicinais no Brasil ocorre em larga escala. Esse conjunto de saberes, frequentemente registrado no campo da etnobotânica e da etnofarmacologia, sustenta hipóteses de pesquisa e orienta a seleção de espécies para estudos fitoquímicos, farmacológicos e de segurança (Almeida *et al.*, 2025; Klider *et al.*, 2025; Yunes; Pedrosa; Cechinel, 2001).

No âmbito das políticas públicas, a incorporação de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema de saúde brasileiro relaciona-se às Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS), formalizadas por meio da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), instituída pela Portaria nº 971/2006, que amplia o acesso a modalidades de cuidado no SUS. Em paralelo, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), aprovada pelo Decreto nº 5.813/2006, estabelece diretrizes para garantir o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade e o fortalecimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (Brasil, 2006; Brasil, 2025).

Como instrumento de priorização, destaca-se a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (ReniSUS), criada em 2009, composta por 71 espécies com potencial terapêutico, com o objetivo de orientar a cadeia produtiva e o desenvolvimento de pesquisas no país (Brasil, 2009). Entre essas espécies, encontra-se a carqueja (*B. trimera*), evidenciando sua relevância sanitária e a necessidade de subsídios técnicos e científicos para garantir identidade e autenticidade de produtos associados a esse nome popular. Assim, a interface entre políticas públicas (PNPIC/PNPMF), listas de priorização (ReniSUS) e pesquisa científica reforça a necessidade de dados de identidade, qualidade e segurança para espécies de amplo uso popular e alta demanda comercial, reduzindo riscos de substituição e variabilidade em produtos botânicos.

3.2 FAMÍLIA ASTERACEAE Bercht. & J.Presl

A família Asteraceae é a maior família de angiospermas já registrada com 1.720 gêneros aceitos e 34.557 espécies aceitas (Compositae, 2025; Powo, 2026; Wfo, 2026). O Brasil

registra 347 gêneros reconhecidos com 2.337 espécies, estando distribuídas em todo território brasileiro e encontrada nos domínios fitogeográficos Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Reflora, 2026). Essa ampla distribuição e plasticidade ecológica contribuem para a expressiva presença da família em diferentes sistemas tradicionais de uso de plantas medicinais.

As espécies de Asteraceae incluem formas de vida diversas, como ervas, subarbustos, arbustos, árvores e lianas, e são reconhecidas pela produção de metabólitos secundários de interesse biológico e farmacológico, como flavonoides, terpenoides (incluindo constituintes voláteis) e alcaloides, entre outras classes (Cilia-López; Cariño-Cortés; Zurita-Salinas, 2021; Flora e Funga do Brasil, 2025). Estudos farmacológicos e fitoquímicos têm demonstrado múltiplas atividades biológicas em espécies da família; entretanto, a extrapolação dessas atividades deve ser feita com cautela, pois há grande variabilidade entre gêneros, espécies, partes vegetais e tipos de extrato, além de diferenças metodológicas entre estudos (Almeida *et al.*, 2025; Armstrong *et al.*, 2024; Klider *et al.*, 2024; Klider *et al.*, 2026 Shahane *et al.*, 2023).

Algumas espécies conhecidas no Brasil são amplamente utilizadas na medicina popular como, por exemplo, alcachofra (*Cynara cardunculus* L.) para dispepsia, calêndula (*Calendula officinalis* L.) para tratamento de úlcera orofaríngea, carqueja (*B. trimera*) como diurético, hepatoprotetor e digestivo, dente-de-leão (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg.) como diurético, hipolipidêmico e antioxidante e o guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) como broncodilatador e anti-inflamatório. (Budel; Duarte, 2009; Choi *et al.*, 2010; Gasparetto *et al.*, 2010; Higa *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2020). Contudo, é essencial distinguir “uso tradicional” de “evidência farmacológica”, especialmente quando essas espécies são comercializadas como drogas vegetais ou empregadas para obtenção do Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal (IFAV) em fitoterápicos, contexto no qual identidade botânica, especificações e controle da qualidade tornam-se determinantes para consistência e segurança.

3.3 GÊNERO *Baccharis* L.

Um dos mais importantes gêneros de Asteraceae é *Baccharis* que é caracterizado por apresentar caule áptero, estriado ou alado e folhas alternas ou raramente subopostas (Heiden, 2026). Apresenta 444 espécies aceitas, sendo que no Brasil é encontrada em maior escala (180 espécies) (Heiden, 2026; Powo, 2026).

Dois grandes grupos são popularmente conhecidos, as “carquejas” (espécies com caule alado ou cladódios) e as “vassouras” (espécies com caules e folhas) (Budel *et al.*, 2018a). São utilizadas na forma de chá medicinal, devido as diversas atividades terapêuticas, como por

exemplo, antidiabética, antifúngica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antimutagênica, antioxidante, antiprotozoária, antiviral, diurética, gastroprotetora e imunomoduladora, efeitos estes, devido à presença de flavonoides, terpenoides e os óleos essenciais como metabólitos secundários dessas espécies vegetais (Campos *et al.*, 2016, Manfron, 2021; Manfron *et al.*, 2022).

Em geral, as espécies de carquejas apresentam cladódios com 2 a 5 alas ao longo do eixo do caule. Por exemplo, *B. articulata* apresenta 2 alas, *B. subtropicalis* G.Heiden tem 3, e *B. pentaptera* (Less.) DC. pode exibir 2, 3 ou 5 alas. Esses caules alados geralmente são desprovidos de folhas ou possuem folhas esparsas reduzidas a escamas, como observado em *B. junciformis* DC. (Reflora, 2026). Do ponto de vista diagnóstico, a distinção entre carquejas demanda marcadores anatômicos consistentes, incluindo caracteres epidérmicos (contorno de paredes anticlinais, tipos estomáticos), micromorfologia de tricomas, organização do mesofilo e morfotipos cristalinos (Budel *et al.*, 2018; Freire; Urtubey; Giuliano, 2007; Manfron *et al.*, 2022).

Vários estudos anatômicos têm sido conduzidos com espécies de carqueja com o objetivo de auxiliar o controle da qualidade da matéria-prima vegetal. Budel *et al.* (2005) realizaram uma revisão abrangente da anatomia das espécies de *Baccharis*, enquanto Freire, Urtubey e Giuliano (2007) examinaram características epidérmicas em 33 espécies, incluindo quatro carquejas: *Baccharis articulata*, *B. crispa* Spreng., *B. microcephala* (Less.) DC. e *B. trimera*. Petenatti *et al.* (2007) forneceram distinções anatômicas entre *B. sagittalis* (Less.) DC. e *B. triangularis* Hauman., destacando o índice estomático. Na sequência, Rodriguez, Gattuso e Gattuso (2008) compararam *B. crispa* e *B. trimera*, determinando novas características micrográficas quantitativas, e esses autores posteriormente expandiram a análise, incluindo *B. articulata* e *B. trimera* usando parâmetros morfoanatômicos, o perfil de polipeptídeos e dados espectrofotométricos.

Budel e Duarte (2009) contribuíram com os estudos morfoanatômicos ao diferenciar *B. microcephala* e *B. trimera* por suas características morfológicas e tipo de tricomas tectores. Em 2010, Budel e Duarte (2010) forneceram características macro e microscópicas dos órgãos vegetativos aéreos de *B. junciformis* (sin. *B. usterii* Heering). Além disso, Rodriguez, Gattuso e Gattuso (2013) estudaram a seção *Caulopterae* de *Baccharis*, produzindo micrografias de *B. articulata*, *B. crispa*, *B. microcephala* e *B. trimera* a fim de estabelecer padrões de referência para o controle da qualidade de matérias-primas vegetais.

Em 2018, uma análise morfoanatômica e estatística das seguintes espécies de *Baccharis* da seção *Caulopterae* foi conduzida: *B. articulata*, *B. crispa*, *B. microcephala*, *B. penningtonii*

Heering, *B. phyteumoides* (Less.) DC., *B. sagittalis* (Less.) DC., *B. triangularis* e *B. trimera* (Martínez *et al.*, 2018). Outras carquejas, como *B. glaziovii* Baker (Jasinski *et al.*, 2014), *B. milleflora* (Less.) DC. (Pereira *et al.*, 2014), *B. trimera* (Minteguiaga *et al.*, 2018), bem como *B. aracatubaensis* Malag., *B. burchellii* Baker e *B. organensis* Baker (Zuccolotto *et al.*, 2019) também foram submetidas a estudos morfoanatômicos. Um capítulo recente de livro (Manfron *et al.*, 2022) fornece uma revisão abrangente das características morfoanatômicas das espécies de *Baccharis* e destacou a necessidade de mais estudos comparativos para aprimorar a abrangência da diversidade das espécies e melhorar a classificação taxonômica do gênero. Apesar desses avanços, permanece a necessidade de ampliar a cobertura de espécies e consolidar conjuntos de marcadores diagnósticos que sejam reprodutíveis e aplicáveis a materiais comerciais fragmentados ou pulverizados.

No contexto regulatório, *Baccharis trimera* consta na Farmacopeia Brasileira e no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, além de integrar a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (ReniSUS) (Brasil, 2009; Brasil, 2019). No âmbito internacional, de acordo com a Farmacopeia Argentina (VI ed., 1978) as espécies *B. articulata* e *B. crispa* eram consideradas oficiais e *B. trimera* era considerada espécie adulterante. Apesar disso, a última edição de dito documento (VII ed., 2003) não inclui nenhuma “carqueja” como oficial (Argentina, 2003). No recorte das farmacopeias, há necessidade de expandir marcadores diagnósticos e perfis de referência para espécies comercializadas como “carqueja” (Brasil, 2009; Brasil, 2024). Espécies do gênero *Baccharis* apresentam ampla diversidade de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, diterpenos, saponinas, compostos fenólicos e constituintes voláteis do óleo essencial (Oliveira *et al.*, 2012). Em *B. trimera*, destacam-se os derivados cafeoilquínicos, especialmente o ácido clorogênico, empregado como marcador químico farmacopéico para fins de padronização e controle da qualidade da droga vegetal (Simões-Pires *et al.*, 2012; Brasil, 2019). Estudos fitoquímicos também demonstram que *B. articulata* e *B. crispa* apresentam volatiloma complexo e composição rica em metabólitos terpênicos e fenólicos, evidenciando o potencial quimiotaxonômico e farmacológico dessas espécies (Minteguiaga, 2019).

Considerando a classificação infragenérica proposta por Heiden *et al.* (2019), as espécies de carqueja avaliadas neste estudo distribuem-se entre as seções *Caulopterae* e *Aphyllae* de *Baccharis*. As espécies *B. jocheniana*, *B. myriocephala* e *B. riograndensis* pertencem à seção *Caulopterae*, enquanto *B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis* pertencem à seção *Aphyllae*. Embora *B. trimera* não tenha sido incluída na amostragem do estudo de Heiden *et al.* (2019), sua afinidade taxonômica com o

complexo *B. crispa*/*B. genistelloides* sustenta sua associação ao grupo tradicionalmente relacionado à seção *Caulopterae*.

3.4 CONTROLE DA QUALIDADE

O controle da qualidade é imprescindível quando existe a ligação entre o uso medicinal de plantas com questões de saúde pública, uma vez que identidade botânica e constância de composição química são determinantes para eficácia e segurança. A adulteração é um problema presente mundialmente e para tentar impedir esse hábito, as Farmacopeias criadas em vários países são de grande apoio para a garantia da qualidade, inclusive a Farmacopeia Brasileira que contém metodologias de controle da qualidade, como por exemplo, métodos de identificação microscópica e macroscópica, descrição do pó, pesquisa de matéria estranha, perda por dessecação, cinzas totais, entre outros (Brasil, 2024; Manfron, 2021).

Essas metodologias de reconhecimento devem estar bem descritas pois a adulteração pode ocorrer de forma intencional ou não intencional. A adulteração intencional é aquela que muitas vezes aumenta o peso bruto na hora da comercialização da planta medicinal, podendo ser adicionado outras espécies ou até mesmo órgãos da própria planta, aumentando o valor do produto final. A adulteração não intencional é favorecida por fatores estruturais da cadeia produtiva, como coleta extrativista sem rastreabilidade, identificação botânica insuficiente, semelhança morfológica entre espécies e uso de nomenclatura tradicional compartilhada, especialmente em mercados informais. Em ambos os casos, o resultado prático é o mesmo: perda de autenticidade e aumento de variabilidade química entre lotes (Manfron, 2021; Upton *et al.*, 2021).

A forma como são comercializadas as drogas vegetais é também um fator para que se realize fraudes botânicas. Isso porque as plantas medicinais são comercializadas na forma fragmentada ou pulverizada, facilitando a falsificação até mesmo por produtos não vegetais (Manfron, 2021). Por isso, materiais pulverizados demandam maior rigor analítico, com prioridade para métodos microscópicos e perfis cromatográficos comparativos.

A avaliação da qualidade é tão importante porque existem vários relatos na literatura de plantas medicinais adulteradas com frequência. Exemplos são o “anis” (*Pimpinella anisum* L.) (Santos; Martins, 2023), “boldo” (*Peumus boldus* Molina) (Santos; Martins, 2023), “espinheira-santa” (*Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral) (Antunes *et al.*, 2023a), “guaco” (*Mikania glomerata* Spreng.) (Almeida *et al.*, 2017) e “aroeira” (*Schinus molle* L.) (Machado *et al.*, 2019). Esses exemplos reforçam que a vulnerabilidade não é pontual, mas

sistêmica, especialmente quando a cadeia de suprimento é longa e o material chega ao consumidor sem rastreabilidade e sem especificações analíticas mínimas.

Dessa forma, a autenticação de plantas medicinais deve ter como base a farmacobotânica, associada a técnicas complementares capazes de aumentar a objetividade da identificação e reduzir a variabilidade entre lotes. Entre essas abordagens, a cromatografia em camada delgada de alta eficiência se destaca por permitir a obtenção de perfis cromatográficos reprodutíveis, úteis para autenticação, detecção de substituições e estabelecimento de perfis de referência.

Sob a perspectiva regulatória, esse rigor é coerente com o marco vigente para fitoterápicos, que reforça a necessidade de controle da matéria-prima vegetal e de constância de autenticidade ao longo do desenvolvimento e da regularização de medicamentos fitoterápicos e tradicionais fitoterápicos (Anvisa, 2025). No caso das “carquejas”, em que coexistem alta diversidade específica e similaridade morfológica, a integração entre caracteres morfoanatômicos, histoquímica e cromatografia em camada delgada de alta eficiência constitui uma estratégia racional e aplicada para suporte ao controle da qualidade de matérias-primas e produtos comerciais.

3.4.1 Análises macro e microscópicas

Os caracteres macroscópicos e microscópicos podem ser utilizados como marcadores botânicos que contribuem para o reconhecimento da matéria-prima vegetal com procedimentos preconizados pela Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024). Como no comércio, a maioria das drogas vegetais são comercializadas rasuradas ou trituradas, o conhecimento morfológico as vezes não é o suficiente para identificação e na maioria das vezes a análise organoléptica é subjetiva. Dessa forma, o conhecimento e a determinação das características microscópicas são imprescindíveis em análise de materiais vegetais secos, uma vez que a características botânicas permanecem constantes nos processos de secagem e fragmentação (Manfron, 2021; Upton *et al.*, 2021).

A microscopia também tem alto valor pois com ela é possível a detecção de material inorgânico, como a presença de areia, pedras e terra, bem como material orgânico estranho à droga vegetal, como partes da mesma planta ou de plantas diferentes, pedaços de insetos e pêlos de animais. Complementarmente, as análises microscópicas são rápidas, confiáveis e de baixo custo (Manfron, 2021).

3.4.2 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE)

A cromatografia é um método físico-químico amplamente empregado para separação, identificação e, quando aplicável, quantificação de componentes presentes em misturas complexas. O princípio baseia-se na distribuição diferencial dos analitos entre uma fase estacionária e uma fase móvel, resultando em diferentes velocidades de migração e, conseqüentemente, em perfis de separação característicos para cada matriz (Peres, 2002). Em estudos com produtos naturais e plantas medicinais, a cromatografia é particularmente útil por permitir a avaliação de perfis químicos e o monitoramento de classes de metabólitos em extratos e preparações vegetais (Antunes *et al.*, 2024).

A cromatografia em camada delgada (CCD), frequentemente empregando sílica gel como fase estacionária, é amplamente utilizada em laboratórios de pesquisa e de controle da qualidade por ser uma técnica simples, robusta e de baixo custo, além de constar em metodologias oficiais para controle da qualidade em diferentes compêndios farmacopeicos (Brasil, 2024; European Pharmacopoeia, 2023; USP, 2024). Entretanto, limitações de reprodutibilidade e padronização podem ocorrer quando o procedimento é executado de forma totalmente manual, especialmente em matrizes complexas.

A cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) constitui uma evolução da CCD, combinando placas de maior desempenho, aplicação e desenvolvimento mais controlados, e documentação densitométrica, o que aumenta sensibilidade, reprodutibilidade e capacidade de padronização, sendo utilizada como ferramenta de perfil cromatográfico para separação e comparação de amostras, além de permitir identificação e quantificação relativa/absoluta de marcadores, com operação semiautomatizada ou automatizada, favorecendo rastreabilidade analítica e controle de variabilidade (Krüger *et al.*, 2013; Raman *et al.*, 2018).

Em aplicações de controle da qualidade, a técnica é particularmente útil para detecção de não conformidades, como substituições e adulterações, e requer pequenas quantidades de amostra, com alta eficiência para triagem e comparação lote a lote (Camag, 2026). Embora diversas farmacopeias internacionais incluam CCDAE em monografias, a Farmacopeia Brasileira ainda utiliza majoritariamente CCD e outras técnicas cromatográficas, como cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), dependendo da monografia e do tipo de insumo vegetal (BRASIL, 2024).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Amostras de partes aéreas (cladódios) das espécies do estudo foram coletadas na região Sul do Brasil. O acesso ao material botânico foi autorizado e licenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/SISGEN), registrado sob os códigos A8364D1 e AC30188. As amostras vegetais foram submetidas à confecção de exsicata e depositadas em Herbário (Tabela 1). A coleta do material foi realizada a partir de partes aéreas das espécies: *B. articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*. O material vegetal foi identificado pelo Dr. Gustavo Heiden, EMBRAPA Clima Temperado, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Informações sobre as coletas das espécies de carqueja.

Espécies	Data da coleta	Código*	Localização	Coordenadas
<i>B. articulata</i> (Lam.) Pers.	18/06/2024	ECT0006351	Pelotas - RS	31° 40' 56.000" S 52° 26' 41.000" W
<i>B. jocheniana</i> G. Heiden & Macias	10/09/2024	ECT0009960	Pelotas - RS	31° 40' 56.000" S 52° 26' 41.000" W
<i>B. junciformis</i> DC.	18/06/2024	ECT0009955	Pelotas - RS	31° 40' 56.000" S 52° 26' 41.000" W
<i>B. milleflora</i> (Less.) DC.	10/06/2022	ICN192141	Ponta Grossa - PR	25° 05' 40.723" S 50° 06' 09.667" W
<i>B. myriocephala</i> DC.	10/03/2023	ECT0009951	Morretes - PR	25° 28' 37.000" S 48° 50' 02.000" W
<i>B. pentaptera</i> (Less.) DC.	10/03/2023	ECT0009952	Piraquara - PR	25° 26' 31.000" S 49° 03' 46.000" W
<i>B. riograndensis</i> Malag. & J. Vidal	18/06/2024	ECT0009954	Pelotas - RS	31° 40' 56.000" S 52° 26' 41.000" W
<i>B. subtropicalis</i> G. Heiden	10/08/2024	ECT0009961	Pelotas - RS	31° 40' 56.000" S 52° 26' 41.000" W
<i>B. trimera</i> (Less.) DC.	10/06/2022	ICN129479	Ponta Grossa - PR	25° 05' 40.723" S 50° 06' 09.667" W

Fonte: O autor.

*Código local ou código de registro.

4.1.1 Amostras comerciais

Dez amostras de drogas vegetais comercializadas com o nome de carqueja foram obtidas no comércio farmacêutico no município de Ponta Grossa, Paraná no mês de julho de 2024, sendo cinco delas a granel e cinco em embalagens de diferentes pesos identificadas como “carqueja”. Uma das amostras de embalagem era comercializada em sachês prontos para chá. As amostras vegetais foram identificadas por números sequenciais de acordo com o momento de obtenção das amostras, sendo os números de “AM1” a “AM10”. Foram adquiridas em 2025 mais cinco amostras comerciais (sendo duas identificadas como *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. uma como *Baccharis gaudichaudiana* DC., sinônimo de *B. articulata* e duas como *B. trimera*) por comércio online dos Estados Unidos, para complementação das análises da cromatografia em camada delgada de alta eficiência com obtenção de dados de diferentes locais. Essas amostras foram numeradas de “AM11” a “AM15”.

4.1.2 Preparo para a microscopia de luz

Partes vegetativas aéreas das espécies *B. articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. myriocephala*, *B. milleflora*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera* foram fixadas em solução de FAA 70: formaldeído: ácido acético: etanol 70% (5: 5: 90) (Johansen, 1940) por cinco dias e lavadas em água destilada. Posteriormente, as espécies foram armazenadas em etanol 70% (Berlyn, Miksche; Sass, 1976). O material vegetal foi seccionado com lâminas de barbear, à mão livre, nos sentidos transversal e longitudinal e submetidos à coloração de Azul de Astra e Fucsina Básica (Roeser, 1972) e de Azul de Toluidina (O’Brien; Feder; McCully, 1964). As secções foram, então, montadas em lâminas de vidro com uma gota de glicerina 50% em água destilada (Berlyn; Miksche; Sass, 1976) e para lutagem foi utilizado esmalte incolor (Beçak; Paulete, 1976).

Para a análise das características epidérmicas da folha, as espécies foram mergulhadas em solução de hipoclorito de sódio a 50% (alvejante doméstico) até ficarem translúcidas. As amostras foram lavadas com água destilada e posteriormente os tecidos foram tratados em solução de ácido acético a 5% para neutralizar o pH, lavados novamente em água destilada e coradas com Safranina (Fuchs, 1963).

Elementos botânicos birrefringentes, como cristais de oxalato de cálcio, foram evidenciados usando um microscópio de luz polarizada (Nikon E600 POL) equipado com sistemas de câmera Nikon DSFiv e software de imagem Nikon NIS-Elements AR 4.30 (Nikon Inc., Tóquio, Japão).

4.1.3 Micromedições

O índice estomático (IE) foi calculado seguindo o procedimento descrito na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024). Quinze campos para cada espécie (cladódios) foram examinados usando a fórmula $IE = (NE / (CE + NE)) \times 100$, onde NE representa o número de estômatos por unidade de área e CE representa o número de células epidérmicas na mesma unidade de área (1 mm^2). As medidas foram realizadas com aumento de 40x. O mesmo foi utilizado para tufos de tricomas. Para quantificar a média e o desvio padrão do tamanho dos estômatos, todos os estômatos dos dez campos amostrados foram sistematicamente medidos quanto ao comprimento e largura nos cladódios de cada espécime usando o software ImageJ® 1.53t. Uma ANOVA unidirecional, seguida de teste post hoc de Tukey HSD, foi utilizada para avaliar a presença de diferenças estatisticamente significativas entre as espécies, com significância estabelecida em $p < 0,05$.

4.1.4 Análises histoquímicas

Os metabólitos secundários foram investigados por métodos histoquímicos. As fotomicrografias foram capturadas usando um microscópio óptico Olympus CX 31 com uma unidade de controle C-7070 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão). Dez cortes transversais de cladódios frescos de cada espécie foram utilizados para análise histoquímica. Os seguintes reagentes e corantes foram utilizados nos testes histoquímicos: cloreto férrico (Berlyn; Miksche; Sass, 1976) e dicromato de potássio (Gabe, 1968) para detecção de compostos fenólicos; Floroglucinol/HCl para mostrar lignina (Sass, 1951); Sudan III (Foster, 1949), Sudan Black (Pearse, 1972), Azul de Nilo (Cain, 1947) e Oil red O (Jayabalan; Shah, 1986) para componentes lipofílicos; Lugol para detectar amido (Berlyn; Miksche; Sass, 1976); Vermelho de Rutênio para pectinas (Johansen, 1940); Azul Brilhante de Coomassie (Fisher, 1968) e Xylidine Ponceau (Vidal, 1970) para corpos proteicos; Vanilina para tanino condensado (Mace; Howell, 1974); Dragendorff (Svendsen, 1983), Ellram e Wagner (Furr; Mahlberg, 1981) para alcaloides; PAS (ácido periódico-Schiff) (O'Brien; McCully, 1981) para polissacarídeo; e NADI (David; Carde, 1964) para terpenos e resinas.

Os resultados da microscopia de luz e dos testes histoquímicos foram analisados por meio de fotomicrografias usando uma máquina fotográfica acoplada ao microscópio ótico (modelo Olympus CX 31 com unidade de controle C 7070) do laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a análise ultraestrutural das espécies de carqueja, as amostras fixadas em FAA foram desidratadas em uma série crescente de soluções de etanol (80%, 90% e 100%). As amostras, totalmente secas, foram fixadas em stubs de alumínio com fitas adesivas de dupla face e depois revestidas com ouro, usando um aparelho de revestimento por pulverização Quorum SC7620 (Quorum Technologies, Laughton, UK) para tornar as amostras condutivas. As amostras foram analisadas e fotografadas usando um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo Mira 3 Field-Emission MEV (Tescan, Brno-Kohoutovice, Czech Republic) em modo de alto vácuo a uma voltagem de aceleração de 15 kV.

4.1.6 Espectroscopia de raio X por energia dispersiva (EDX)

Microanálises por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS/EDX) foram realizadas em cristais selecionados em regiões representativas dos tecidos, utilizando um detector EDS acoplado ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). As análises de MEV e EDS foram conduzidas no laboratório multiusuário c-LABMU da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), sob voltagem de aceleração de 15 kV, com aquisição de espectros para avaliação qualitativa e semiquantitativa da composição elementar.

4.1.7 Elaboração de chave dicotômica

A estrutura da chave seguiu o princípio hierárquico clássico das chaves dicotômicas, no qual os caracteres mais gerais e de fácil observação são utilizados nos primeiros pares dicotômicos, enquanto caracteres mais específicos ou microscópicos são empregados nos níveis subsequentes de separação. Assim, inicialmente foram utilizados caracteres relacionados à arquitetura do cladódio, como o número de alas e a presença de folhas, seguidos por características da superfície epidérmica, como a ornamentação da cutícula e o padrão das paredes anticlinais. Nos níveis finais da chave foram empregados caracteres anatômicos mais específicos, como a presença de colênquima angular nas alas e os diferentes tipos de tricomas.

Para sua construção, foi inicialmente organizada uma matriz de caracteres qualitativos e quantitativos contendo as principais características diagnósticas registradas para cada espécie. A partir dessa matriz, foram selecionados os caracteres com maior estabilidade e poder discriminatório entre os táxons.

Caracteres quantitativos, como densidade de tricomas e índice estomático, embora tenham sido registrados e analisados no estudo anatômico, não foram utilizados diretamente na chave dicotômica devido à possibilidade de sobreposição entre espécies e à influência de fatores

ambientais e ontogenéticos sobre sua variação. Dessa forma, tais caracteres foram considerados apenas como elementos complementares na discussão anatômica das espécies.

4.1.8 Distinção morfoanatômica entre as seções *Caulopterae* e *Aphyllae*

As espécies foram agrupadas de acordo com a classificação filogenética proposta por Heiden *et al.* (2019), sendo posteriormente comparadas quanto aos caracteres anatômicos, micromorfológicos e histoquímicos observados nos cladódios e tecidos epidérmicos, visando identificar possíveis distinções estruturais e reconhecer características recorrentes associadas as seções *Caulopterae* e *Aphyllae*.

4.2 PESQUISA DA MATÉRIA ESTRANHA

Dez amostras comerciais foram submetidas a triagem individual para pesquisa de matéria estranha. O material foi disposto sobre superfície plana e submetido à inspeção visual sistemática, com separação manual dos cladódios e dos demais órgãos vegetais, bem como de sujidades e materiais não vegetais, visando à identificação e quantificação de elementos estranhos. O procedimento foi conduzido de acordo com os princípios e recomendações farmacopeicas para determinação de matéria estranha em drogas vegetais (Brasil, 2024). A massa de matéria estranha removida foi determinada e expressa como percentual (m/m) em relação à massa total da porção analisada.

4.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)

4.3.1 Reagentes, placa e equipamentos

Para as análises dos extratos de todas as espécies do estudo e também das amostras comerciais por CCDAE foram utilizados os reagentes 2-aminoetil difenilborinato (97%), acetato de etila ($\geq 99\%$), acetato de n-butila ($\geq 99,5\%$) ácido acético ($\geq 99\%$), ácido fórmico ($\geq 98\%$), ácido sulfúrico (95-98%), água, metanol ($\geq 99,7\%$) e tolueno (99,8%) da Sigma-Aldrich e *p*-anisaldeído ($\geq 99\%$) Acros Organics.

As análises foram realizadas em placas HPTLC Si 60 F254 (vidro, 20 × 10 cm; Supelco). O sistema instrumental utilizado foi da CAMAG, composto por amostrador automático TLC Sampler 4, câmara automática de desenvolvimento ADC 2, visualizador TLC Visualizer 2, derivatizador (sprayer) e placa aquecedora TLC Plate Heater III.

4.3.2 Amostras e padrões de identificação

Foram analisadas, por CCDAE, amostras botânicas de referência correspondentes às nove espécies de *Baccharis* citadas na Tabela 1, bem como amostras comerciais rotuladas como “carqueja”. As amostras botânicas já identificadas e caracterizadas, serviram de referência para as amostras comerciais, sendo codificadas de REF1 a REF9, e as amostras comerciais de AM1 a AM15, conforme identificação do rótulo e/ou declaração do fornecedor. A relação entre códigos, descrição das amostras e datas de aquisição encontra-se apresentada na Tabela 2.

Como padrões de identificação, foram empregados compostos fenólicos e flavonoides de referência preparados em metanol, em concentração de 200 µg/mL, a partir de soluções estoque de 1 mg/mL. Ao longo do desenvolvimento metodológico e da interpretação dos perfis cromatográficos foram utilizados os padrões de ácido clorogênico, ácido cafeico, quercetina, rutina, kaempferol e apigenina, conforme a etapa analítica considerada e as condições cromatográficas avaliadas, tendo como referência a Farmacopeia Brasileira para escolha dos padrões (Brasil, 2024). UHM (Universal HPTLC Mix), uma mistura de substâncias desenvolvida pela CAMAG, foi empregada como padrão de desempenho para verificação de adequação do sistema durante a execução das análises por CCDAE para assegurar a garantia da qualidade na execução.

Tabela 2 – Informações gerais de amostras e amostras botânicas de referência utilizados nas análises por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Código	Descrição da amostra	Data de aquisição
REF1	<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Pers.	02/01/2025
REF2	<i>Baccharis jocheniana</i> G. Heiden & Macias	02/01/2025
REF3	<i>Baccharis junciformis</i> DC.	02/01/2025
REF4	<i>Baccharis milleflora</i> (Less.) DC.	02/01/2025
REF5	<i>Baccharis myriocephala</i> DC.	02/01/2025
REF6	<i>Baccharis pentaptera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
REF7	<i>Baccharis riograndensis</i> Malag. & J. Vidal	02/01/2025
REF8	<i>Baccharis subtropicalis</i> G. Heiden	02/01/2025
REF9	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
AM1	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
AM2	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
AM3	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
AM4	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	02/01/2025
AM5	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM6	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM7	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM8	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM9	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM10	Amostra comercial (rótulo conforme fornecedor)	17/01/2025
AM11	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	17/01/2025
AM12	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis genistelloides</i> (Lam). Pers.	17/01/2025
AM13	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis genistelloides</i> (Lam). Pers.	17/01/2025
AM14	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis gaudichaudiana</i> DC.	17/01/2025
AM15	Amostra comercial rotulada como <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	23/01/2025

Fonte: O autor.

Os padrões de referência utilizados foram: ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico (Cayman Chemical); ácido cafeico, apigenina e kaempferol (Sigma-Aldrich); ácido clorogênico, quercetina e rutina (USP), além do UHM.

4.3.3 Método de identificação e validação do método

O material vegetal destinado à análise cromatográfica foi previamente pulverizado. Para obtenção dos extratos, 200 mg do material vegetal em pó foram extraídos com 2,0 mL de metanol, em banho de ultrassom, por 10 min, à temperatura ambiente. Após a extração, as

amostras foram centrifugadas por 5 min, sendo o sobrenadante utilizado para aplicação cromatográfica. Em etapa exploratória do desenvolvimento do método, também foi avaliada uma segunda condição de extração para *B. trimera*, utilizando-se 200 mg de material vegetal em 1,5 mL de metanol, com o objetivo de verificar o efeito da concentração do extrato sobre a definição dos perfis cromatográficos.

As soluções padrão dos marcadores químicos ácido clorogênico, quercetina, rutina e ácido cafeico, foram preparadas em metanol na concentração de 200 µg/mL, a partir de soluções estoque de 1 mg/mL. Para a derivatização, foi empregada solução de 2-aminoetil difenilborinato a 1% (m/v) em metanol, preparada pela dissolução de 1,0 g do reagente em 100 mL de metanol. Quando necessário, o reagente *p*-anisaldeído foi preparado mediante adição lenta de 10 mL de ácido acético e 5 mL de ácido sulfúrico a 85 mL de metanol previamente resfriado em gelo, seguida da adição de 0,05 mL de *p*-anisaldeído após retorno à temperatura ambiente.

As amostras foram aplicadas em placas de Silica gel 60 F254, 20 × 10 cm (Supelco), usando um amostrador automático TLC Sampler 4, contendo seringa (microlitro), faixa de aplicação de 8,5 mm, distância entre as faixas de 11,4 mm, distância das bordas laterais 15 mm e distância da borda inferior 8 mm. A posição da aplicação foi em X: 20 mm e Y: 8 mm, com diferentes volumes de aplicação, tanto de amostras como também os padrões de referências, em condições controladas de temperatura (20–22 °C) e umidade relativa (20–50%). Foram aplicados 3,0 µL das soluções padrão e 5,0 µL das amostras em cada faixa, como mostra a Tabela 3.

A documentação cromatográfica foi realizada com o TLC Visualizer 2. A identificação foi baseada na comparação dos perfis cromatográficos das amostras botânicas de referência com os das amostras comerciais, considerando-se a posição relativa das bandas, a coloração após derivatização, a intensidade do sinal e a distribuição geral do perfil cromatográfico.

Tabela 3 - Descrição do volume e posição das amostras de *Baccharis* (*sect. Caulopterae* e *Aphyllae*) e dos padrões utilizados na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Faixa (track)	Identificação	Descrição	Volume (µL)	Tipo
1	Branco	Metanol (solvente)	5,0	Branco
2	UHM	Universal HPTLC Mix	2,0	Referência
3	Padrão 1	Ácido clorogênico	3,0	Referência
4	Padrão 2	Quercetina	3,0	Referência
5	Padrão 3	Rutina	3,0	Referência
6	Padrão 4	Ácido cafeico	3,0	Referência
7	Amostra	<i>B. articulata</i> (Lam.) Pers.	5,0	Amostra
8	Amostra	<i>B. jocheniana</i> G. Heiden & Macias	5,0	Amostra
9	Amostra	<i>B. junciformis</i> DC.	5,0	Amostra
10	Amostra	<i>B. milleflora</i> (Less.) DC.	5,0	Amostra
11	Amostra	<i>B. myriocephala</i> DC.	5,0	Amostra
12	Amostra	<i>B. pentaptera</i> (Less.) DC.	5,0	Amostra
13	Amostra	<i>B. riograndensis</i> Malag. & J. Vidal	5,0	Amostra
14	Amostra	<i>B. subtropicalis</i> G. Heiden	5,0	Amostra
15	Amostra	<i>B. trimera</i> (Less.) DC.	5,0	Amostra

Fonte: O autor.

A validação do método analítico foi conduzida de acordo com as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC nº 166/2017) e do International Council for Harmonisation (ICH), sendo os parâmetros avaliados em função da finalidade da metodologia da técnica empregada (Brasil, 2017; Ich, 2023).

Considerando a aplicação da CCDAE para análise das amostras vegetais, a validação foi direcionada à avaliação da confiabilidade do método em termos de precisão, estabilidade e robustez. Esses parâmetros são particularmente relevantes para métodos de caráter qualitativo ou de perfil cromatográfico, nos quais a reprodutibilidade dos resultados e a consistência das respostas analíticas são fundamentais.

A precisão foi avaliada por meio da repetibilidade (intradia) e da precisão intermediária (interdias), com o objetivo de verificar a concordância entre resultados obtidos sob as mesmas condições experimentais e em dias distintos. As análises foram realizadas em triplicata, com aplicação do padrão de referência UHM em três diferentes posições da placa cromatográfica, ao longo de três dias. Os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (%DPR), sendo considerados aceitáveis valores compatíveis com a variabilidade experimental esperada para as análises por CCDAE.

A estabilidade foi investigada por meio da comparação dos perfis cromatográficos obtidos em diferentes condições de preparo da amostra, incluindo amostras recém-preparadas,

mantidas em solução e aplicadas na placa cromatográfica por período de 3 horas, além da avaliação em diferentes tempos após a derivatização. A análise foi baseada nos valores do fator de retenção (R_f) e das áreas relativas (%) dos principais picos, bem como na presença ou ausência de bandas, permitindo verificar possíveis alterações ao longo do tempo e das condições experimentais.

A robustez do método foi avaliada a partir de pequenas variações no procedimento experimental, incluindo variações no volume da fase móvel, no preparo das amostras e nas condições de análise, como a temperatura da placa cromatográfica, variando a temperatura durante 3 minutos e mantendo a mesma temperatura (100°C), variando o tempo para aquecer a placa (uma por 2 minutos e outra por 4 minutos), observando-se o efeito no perfil cromatográfico. O impacto dessas variações foi determinado com base na reprodutibilidade dos valores de R_f e das áreas relativas, demonstrando a capacidade do método em manter seu desempenho sob condições normais de uso. As análises foram realizadas utilizando o programa *VisionCATS* versão 4.2.

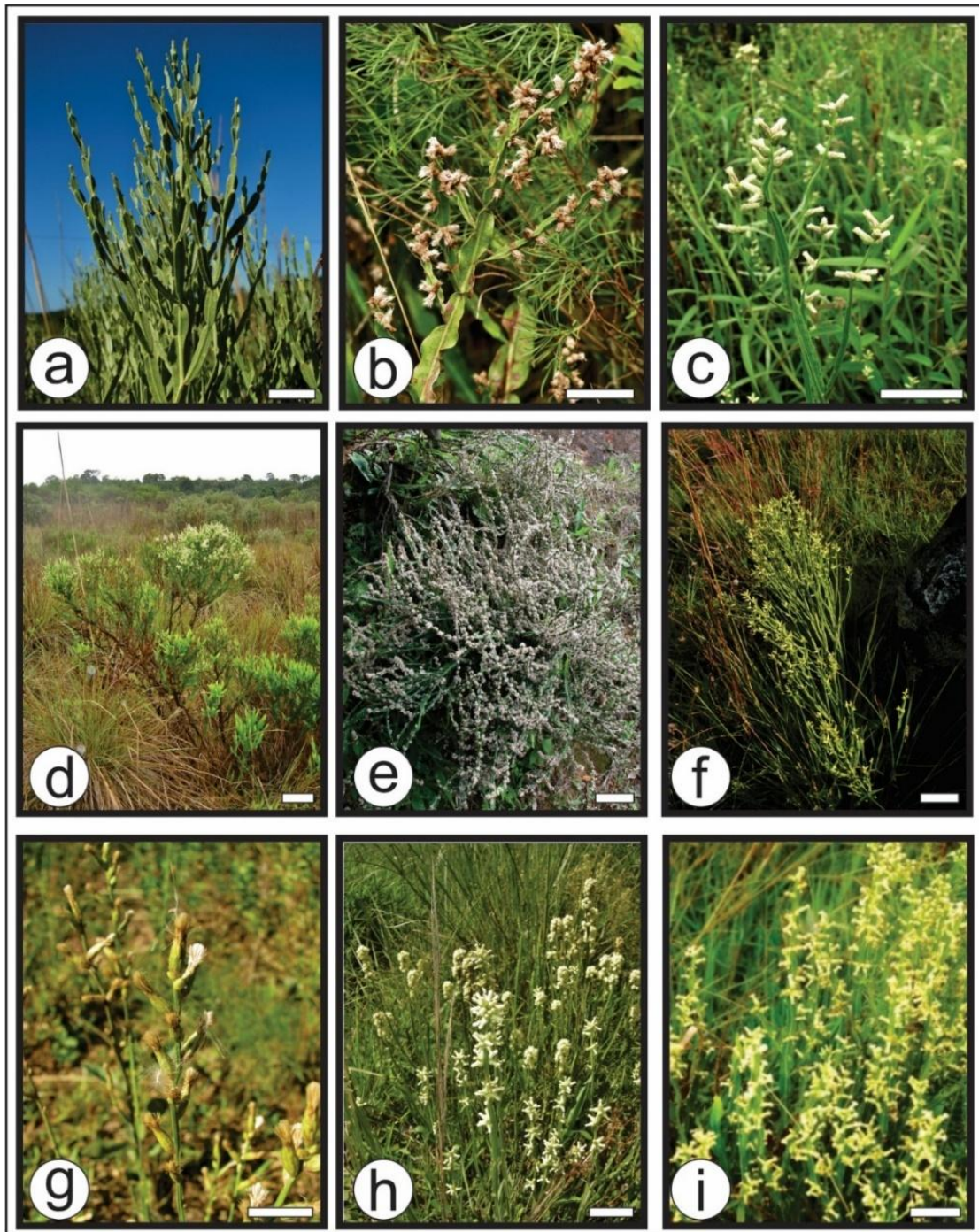
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MORFOANATOMIA DOS CLADÓDIOS

As características morfoanatômicas dos cladódios das nove espécies de *Baccharis* foram comparadas e as principais características que sustentam a diferenciação são resumidas no Quadro 1. As características morfológicas foram semelhantes entre as espécies (Figura 1). A dificuldade surge devido ao fato de todas as carquejas apresentarem cladódios, o que favorece erros de identificação e, conseqüentemente, substituição/adulteração, mesmo que o número de alas possa variar, como mostram as Figuras 2 e 3. *Baccharis articulata* (Figura 1a) apresenta duas alas (Figuras 2a, 3a) medindo 0,3–0,6 cm em largura, enquanto *B. jocheniana* (Figura 1b) apresenta 3 alas (Figuras 2b, 3b) variando entre 1 e 2,5 cm. *Baccharis junciformis* (Figura 1c) contém 3 alas (Figuras 2c, 3c) que variam de 0,5–1,5 cm em largura, enquanto que *B. milleflora* (Figura 1d) tem três alas (Figuras 2d, 3d) variando de 0,5 a 2 cm. *Baccharis myriocephala* (Figura 1e) apresenta três alas (Figuras 2e, 3e) medindo 0,2–0,4 cm de largura, enquanto *B. pentaptera* (Figura 1f) possui duas alas (Figuras 2f, 3f) nos cladódios reprodutivos (0,2–0,4 cm de largura) e 3–(5) alas (Figura 2g, h) nos cladódios vegetativos. *Baccharis riograndensis* (Figura 1g) exibe três alas (Figuras 2i, 3g) medindo 0,2–0,5 cm de largura. *Baccharis subtropicalis* (Figura 1h) apresenta três alas (Figuras 2j, 3h), medindo 0,3–1 cm de largura e, por fim, *B. trimera* (Figura 1i) também possui três alas (Figuras 2k, 3i), medindo 0,3–1 cm em largura.

Embora a diferenciação morfológica seja possível durante a floração ou a frutificação, carquejas são comumente comercializadas na forma rasurada, ou seja, como cladódios fragmentados e secos, tornando a identificação das espécies um desafio. Quando todas as características necessárias estão disponíveis, um exame morfológico é considerado o método primário e preferido para autenticação botânica. Todavia, dada a forma como as carquejas são comercializadas, essas análises tornam-se indispensáveis para sustentar a identificação das espécies e subsidiar o controle da qualidade da matéria-prima vegetal.

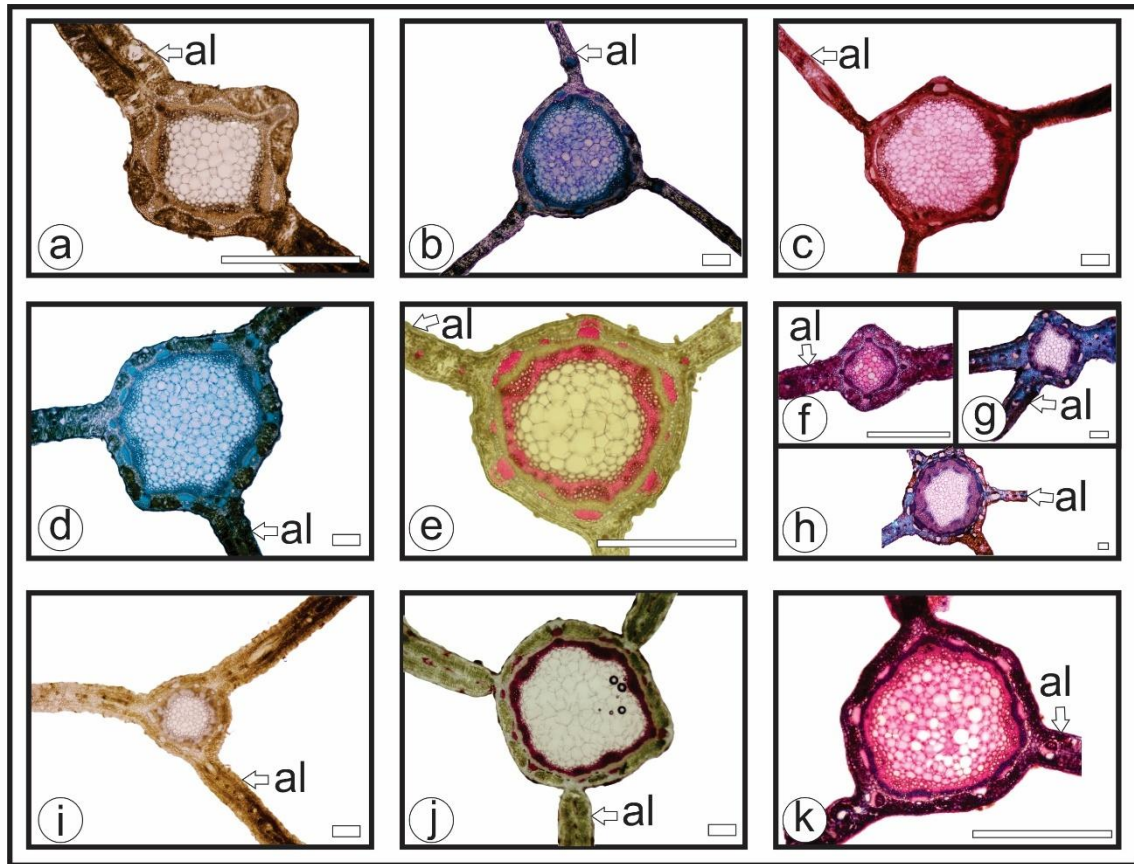
Figura 1. Espécies de carqueja no habitat.



Fonte: o autor.

Notas: Espécies de carqueja no habitat. *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c); *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f); *B. riograndensis* (g); *B. subtropicalis* (h); *B. trimera* (i). Seções *Baccharis* sect. *Caulopterae* DC. (*B. jocheniana*, *B. myriocephala*, *B. riograndensis* e *B. trimera*) e *Baccharis* sect. *Aphyllae* Baker (*B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*). Barra de escala: a-i = 1 cm.

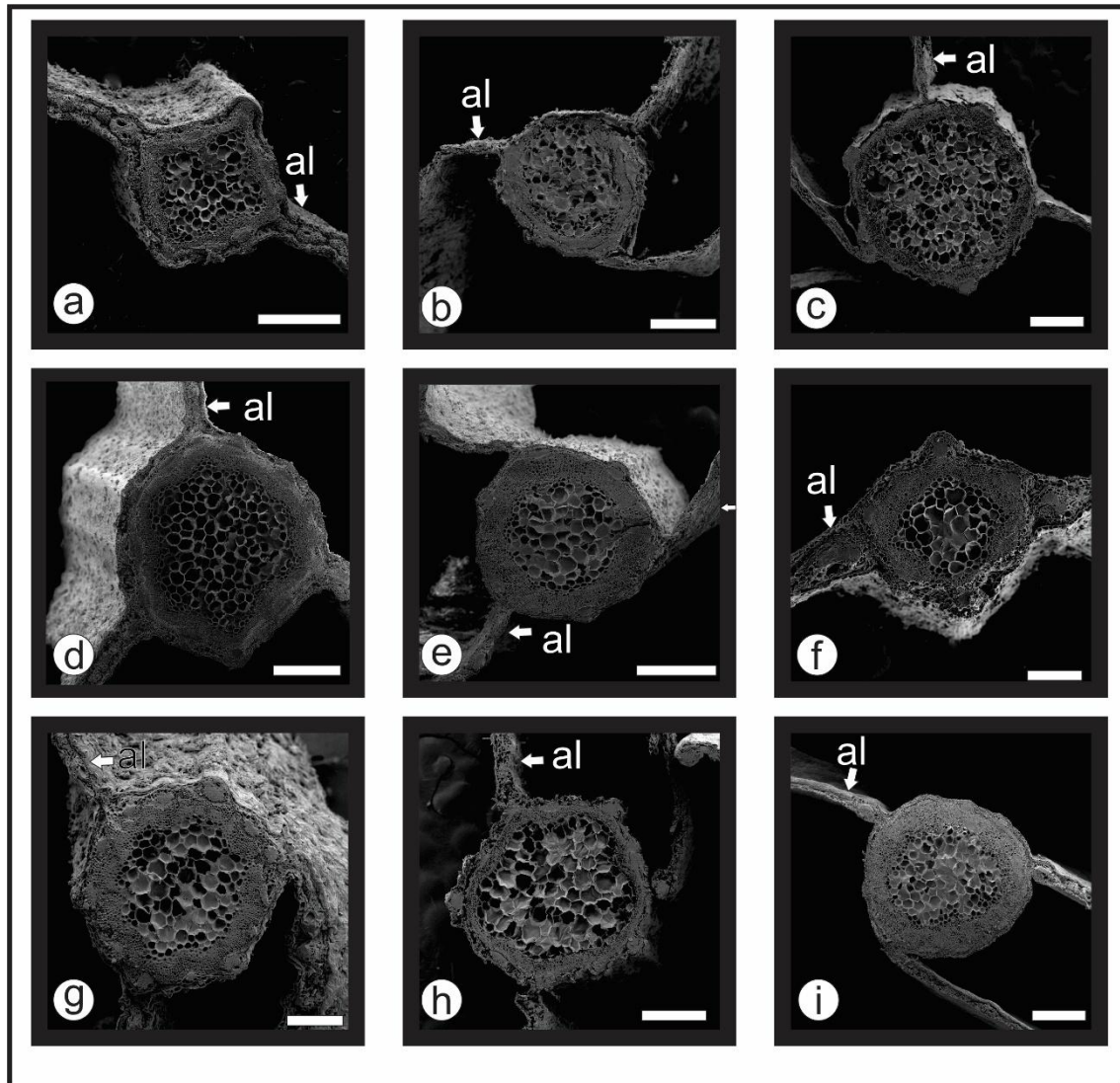
Figura 2. Microscopia ótica das secções transversais dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

Notas: Anatomia dos cladódios – secção transversal, coloração com Azul de Astra e Fucsina Básica (f, g, h, k), coloração de Azul de Toluidina (b, d), reação com Ellram (a, i), Oil Red O (c) e Floroglucinol/HCl (e, j). *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c); *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f, g, h); *B. riograndensis* (i); *B. subtropicalis* (j); *B. trimera* (k). Seções *Baccharis* sect. *Caulopterae* DC. (*B. jocheniana*, *B. myriocephala*, *B. riograndensis* e *B. trimera*) e *Baccharis* sect. *Aphyllae* Baker (*B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*). al: ala. Barra de escala: a-k = 500 μm.

Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura – seção transversal (MEV) dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

Notas: Anatomia dos cladódios por MEV – seção transversal. *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c); *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f); *B. riograndensis* (g); *B. subtropicalis* (h); *B. trimera* (i). Seções *Baccharis* sect. *Caulopterae* DC. (*B. jocheniana*, *B. myriocephala*, *B. riograndensis* e *B. trimera*) e *Baccharis* sect. *Aphyllae* Baker (*B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*). al: ala. Barra de escala: a, b, c, d, e, h, i = 500 μm; g, h = 200 μm.

Quadro 1. Características anatômicas para diferenciação das espécies de carqueja.

Espécies Anatomia	<i>B. articulata</i>	<i>B. jocheniana</i>	<i>B. junciformis</i>	<i>B. milleflora</i>	<i>B. myriocephala</i>	<i>B. pentaptera</i>	<i>B. riograndensis</i>	<i>B. subtropicalis</i>	<i>B. trimera</i>
Número de alas/largura em cm	2/0,3-0,6	3/1-2,5	3/0,5-1	3/0,5-2	3/0,2-0,4	2, 3 ou 5 /0,2-0,4	3/0,2-0,5	3/0,3-1	
Paredes anticlinais das células epidérmicas	retas a levemente onduladas	retas a levemente onduladas	retas a levemente onduladas	retas a levemente onduladas	retas a levemente onduladas (elevada acima da superfície do cladódio)		retas a levemente onduladas	retas a levemente onduladas	onduladas
Cutícula	estriada	lisa a levemente estriada	lisa a levemente estriada	lisa a levemente estriada	estrias, especialmente concêntricas ao redor dos estômatos			lisa a levemente estriada	lisa a levemente estriada
Tipo de estômato	anomocítico, anisocítico, ciclocítico e tetracítico	anomocítico		anomocítico, ciclocítico e paratetracítico	anomocítico, anisocítico, ciclocítico e tetracítico	anomocítico e anisocítico			
Índice estomático	5,3 ± 0,67 ^a	7,0 ± 0,81 ^b	7,4 ± 0,51 ^b	3,5 ± 0,70 ^c	5,3 ± 0,67 ^a	9,1 ± 0,87 ^d	10,6 ± 0,96 ^c	3,2 ± 0,42 ^c	15,2 ± 0,91 ^f
Comprimento médio x largura em µm dos estômatos	51,8 ± 1,95 ^a × 32,5 ± 1,51 ^A	16,0 ± 0,81 ^b × 9,2 ± 0,63 ^B	20,7 ± 1,15 ^c × 13,5 ± 1,08 ^C	48,0 ± 2,09 ^d × 27,8 ± 2,71 ^D	19,5 ± 1,58 ^c × 12,3 ± 2,0 ^C	35,4 ± 1,51 ^c × 21,0 ± 3,46 ^E	35,2 ± 1,78 ^c × 21,2 ± 2,28 ^E	52,9 ± 2,23 ^a × 42,0 ± 2,62 ^F	10,6 ± 1,14 ^f × 7,30 ± 0,58 ^G

Fonte: O autor.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa em $p < 0,05$ (ANOVA unidirecional com teste de post hoc HSD de Tukey); média e desvio padrão de 10 campos com ampliação de 40×.

Características epidérmicas, incluindo cutícula, paredes anticlinais das células, estômatos e tricomas foram reconhecidas como características marcadoras na descrição botânica do gênero *Baccharis* (Budel *et al.*, 2018a; Manfron *et al.*, 2022; Freire; Urtubey; Giuliano, 2007). As Figuras 4 e 5 apresentam essas características. Apenas *B. trimera* (Figura 4i) apresenta paredes anticlinais das células epidérmicas onduladas, enquanto que nas demais espécies mostram-se retas a levemente onduladas (Figuras 4a-h). Além disso, a parede celular epidérmica é visivelmente elevada acima das superfícies do cladódio em *B. myriocephala* (Figuras 4e, n) e *B. pentaptera* (Figuras 4f, o).

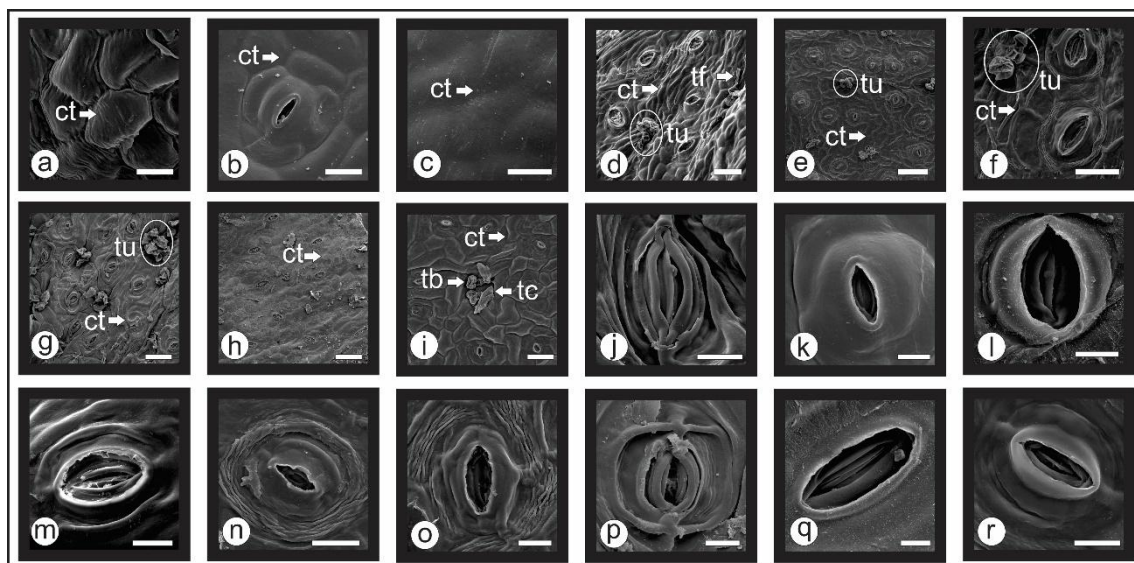
A Figura 5 mostram que *B. jocheniana* (Figura 4b), *B. junciformis* (Figura 4c), *B. milleflora* (Figura 4d), *B. subtropicalis* (Figura 4h) e *B. trimera* (Figura 4i) possuem cutículas lisas ou levemente estriadas. No entanto, *B. articulata* (Figura 4a) apresentou cutícula estriada, enquanto *B. myriocephala* (Figura 4n), *B. pentaptera* (Figura 4o) e *B. riograndensis* (Figura 4p) apresentaram cutícula estriada, especialmente como anéis concêntricos ao redor dos estômatos. Esta característica também foi observada em *B. microdonta* DC. e *B. sphenophylla* Dusén ex Malme (Manfron *et al.*, 2022). No presente estudo, cutículas estriadas também foram encontradas em direção perpendicular à base dos tricomas em *B. myriocephala* (Figura 4e), *B. pentaptera* (Figura 4f), *B. riograndensis* (Figura 4g) e *B. trimera* (Figura 4i), como observado em *B. punctulata* DC. por Budel *et al.* (2018a). A ornamentação cuticular pode auxiliar na diferenciação das espécies quando analisada em conjunto com outras características.

De acordo com Budel *et al.* (2018a), o tipo de estômato pode auxiliar na identificação das espécies de *Baccharis* como também observado neste estudo. Freire, Urtubey e Giuliano (2007) encontraram seis tipos de estômatos: anomocíticos, anisocíticos, ciclocíticos, actinocíticos, tetracíticos e estaurocíticos em *Baccharis*. No presente estudo, estômatos (Figura 5a-i) do tipo anomocítico são encontrados em todas as espécies estudadas, ciclocíticos foram encontrados em *B. articulata* (Figura 4j), *B. milleflora* (Figura 4m) e *B. myriocephala* (Figura 4n). Os estômatos anisocíticos estão presentes em *B. pentaptera* (Figura 4o), *B. riograndensis* (Figura 4p), *B. subtropicalis* (Figura 4q) e *B. trimera* (Figura 4r).

Rodriguez, Gattuso e Gattuso (2013) afirmaram que o tamanho do estômato e o índice estomático podem ajudar a diferenciar as espécies de *Baccharis*. Esses recursos exibiram variação substancial entre as espécies de *Baccharis* examinadas. *Baccharis trimera* demonstrou o maior índice estomático ($15,2 \pm 0,91^f$), estatisticamente distinto de todas as outras espécies, seguidas por *B. riograndensis* ($10,6 \pm 0,96^e$), *B. pentaptera* ($9,1 \pm 0,87^d$), *B. jocheniana* ($7,0 \pm 0,81^b$), *B. junciformis* ($7,4 \pm 0,51^b$), *B. articulata* ($5,3 \pm 0,67^a$), *B. myriocephala* ($5,3 \pm 0,67^a$) e *B. milleflora* ($3,5 \pm 0,70^c$). *Baccharis subtropicalis* ($3,2 \pm 0,42^c$) possui o menor índice

estomático em comparação com as demais espécies. O tamanho do estômato, medido como comprimento e largura médios, diferencia ainda mais essas espécies. *Baccharis subtropicalis* e *B. articulata* apresentam os maiores estômatos, com dimensões de $52,9 \mu\text{m} \pm 2,23^a \times 42,0 \mu\text{m} \pm 2,62^F$, $51,8 \mu\text{m} \pm 1,95^a \times 32,5 \mu\text{m} \pm 1,51^A$, respectivamente, ambos estatisticamente maiores que os de outras espécies. Por outro lado, *B. trimera* mostra os menores estômatos ($10,6 \mu\text{m} \pm 1,14^f \times 7,30 \mu\text{m} \pm 0,58^G$), significativamente diferente dos demais, indicando acentuada redução tanto no comprimento quanto na largura. Espécies como *B. milleflora* ($48,0 \mu\text{m} \pm 2,09^d \times 27,8 \mu\text{m} \pm 2,71^D$), *B. jocheniana* ($16,0 \mu\text{m} \pm 0,81^b \times 9,2 \mu\text{m} \pm 0,63^B$), *B. junciformis* ($20,7 \mu\text{m} \pm 1,15^c \times 13,5 \mu\text{m} \pm 1,08^C$), *B. myriocephala* ($19,5 \mu\text{m} \pm 1,58^c \times 12,3 \mu\text{m} \pm 2,0^C$), *B. pentaptera* ($35,4 \mu\text{m} \pm 1,51^e \times 21,0 \mu\text{m} \pm 3,46^E$) e *B. riograndensis* ($35,2 \mu\text{m} \pm 1,78^e \times 21,2 \mu\text{m} \pm 2,28^E$) apresentam tamanhos estomáticos intermediários, mas diferenças estatisticamente significativas, como indicado pelas letras correspondentes. Estes resultados sugerem que o tamanho dos estômatos, juntamente com o índice estomático contribuem para a diferenciação funcional entre as espécies (Quadro 1).

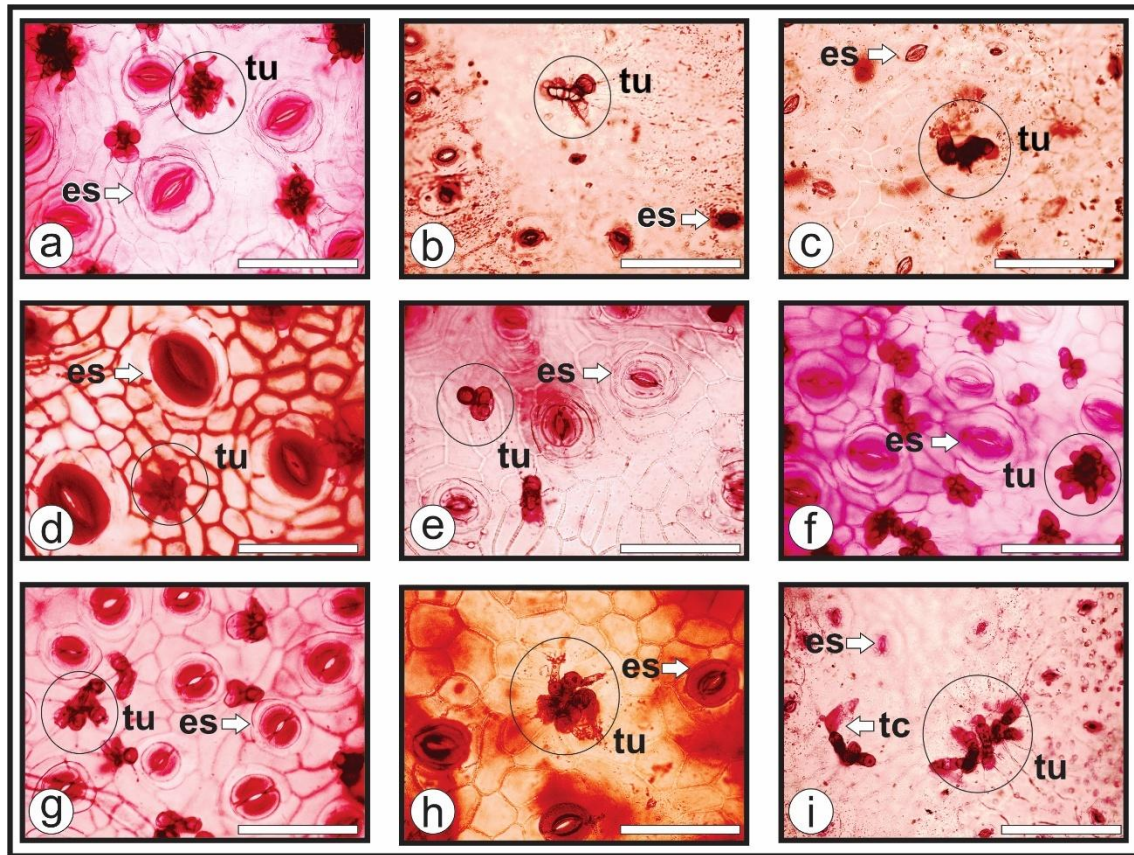
Figura 4. Microscopia eletrônica dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

Notas: Vista frontal dos cladódios por microscopia eletrônica de varredura. *Baccharis articulata* (a, j); *B. jocheniana* (b, k); *B. junciformis* (c, l); *B. milleflora* (d, m); *B. myriocephala* (e, n); *B. pentaptera* (f, o); *B. riograndensis* (g, p); *B. subtropicalis* (h, q); *B. trimera* (i, r). ct: cutícula; tb: tricoma bisseriado; tc: tricoma clavado; tf: tricoma flageliforme; tu: tufo de tricomas. Barra de escala: e, h = 100 μm ; d, f, g, i = 50 μm ; a, b, c, j, m, n, o = 20 μm ; k, l, p, q, r = 10 μm .

Figura 5. Anatomia dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

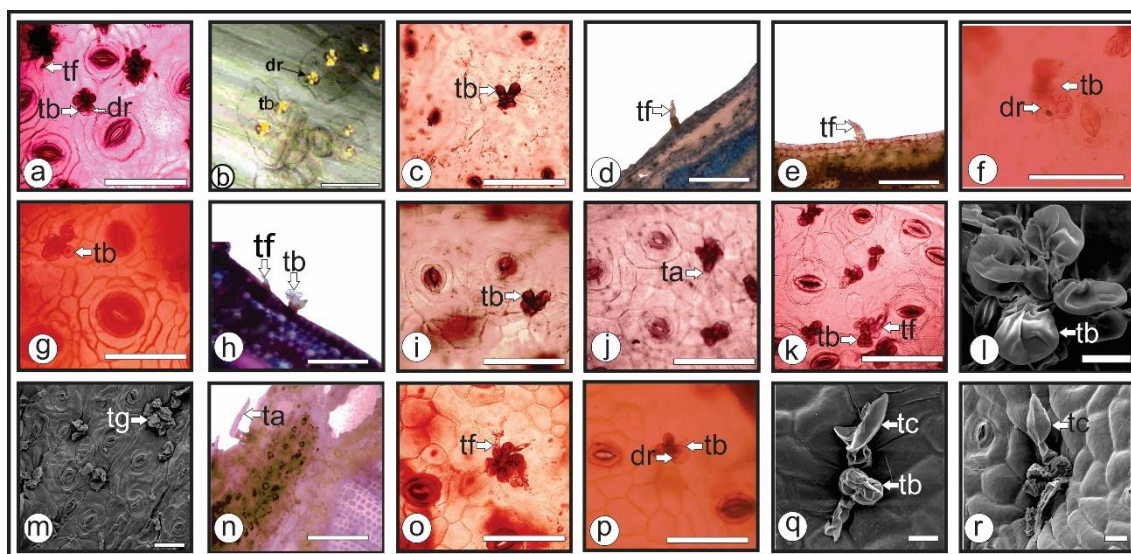
Notas: Microscopia de luz demonstrando a vista frontal da epiderme dos cladódios. *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c); *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f); *B. riograndensis* (g); *B. subtropicalis* (h); *B. trimera* (i). es: estômato; tc: tricoma clavado; tu: tufo de tricomas. Barra de escala: a-i = 100 μ m.

Freire, Urtubey e Giuliano (2007) estudaram 38 espécies de *Baccharis*, identificaram 7 tipos de tricomas e afirmaram que podem ser cônicos, flagelados asseptados, simples, ramificados, flagelados filiformes, ramificados com 2–4 ramificações. Esses autores afirmaram que os tricomas são considerados os mais significativos marcadores anatômicos para identificação das espécies de *Baccharis*, enquanto outras características, como tipo de estômato e estrutura da parede celular epidérmica, podem auxiliar na diferenciação como características secundárias. Os tricomas agrupados em tufos são característicos na família Asteraceae (Müller, 2003). Na maioria das espécies do gênero *Baccharis*, esses tufos estão distribuídos uniformemente pela epiderme de cladódios. Normalmente, esses tufos compreendem tanto os tricomas flageliformes como tricomas glandulares (Budel *et al.*, 2018; Manfron *et al.*, 2022; Ornellas *et al.*, 2019).

Em concordância com a literatura foram encontrados tufos de tricomas nas nove carquejas analisadas, como mostra a Figura 5 (a-i) e a Figura 6 (a-r). Tricomas glandulares

bisseriados estão presentes em todas as espécies e são compostos por dois pares de células basais e uma cabeça contendo até quatro pares de células secretoras. Eles podem ser encontrados solitários, juntamente com tricomas flageliformes ou somente com tricomas semelhantes, em tufos. Os testes histoquímicos com Sudan III confirmaram a presença de conteúdo lipofílico nas células secretoras desses tricomas. Uma variação de tricomas glandulares bisseriados ocorre quando as duas células secretoras apicais contêm uma drusa em cada uma delas. Essa característica é um bom marcador anatômico pois foi encontrada em três espécies de carqueja do presente estudo, evidenciada em *B. articulata* (Figuras 6a, b), *B. junciformis* (Figura 6g) e *B. subtropicalis* (Figura 6p), podendo ser considerado um marcador anatômico para estas espécies em relação às demais carquejas do estudo. Essa característica também foi relatada em outros estudos, sendo observadas em *B. articulata* (Raeski *et al.*, 2023a; Raeski *et al.*, 2023b), *B. microdonta*, *B. punctulata* e *B. sphenophylla* (Budel *et al.*, 2018a).

Figura 6. Anatomia dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

Notas: anatomia dos cladódios. Diafanização (a, c, f, g, i, j, k, o, p); microscopia de polarização (b); secção transversal (d, e, h, n); microscopia eletrônica de varredura (l, m, q, r). *Baccharis articulata* (a, b); *B. jocheniana* (c, d); *B. junciformis* (e, f); *B. milleflora* (g, h); *B. myriocephala* (i, j); *B. pentaptera* (k, l); *B. riograndensis* (m, n); *B. subtropicalis* (o, p); *B. trimera* (q, r). dr: drusa; ta: tricoma armado; tb: tricoma bisseriado; tc: tricoma clavado; tf: tricoma flageliforme; Barra de escala: a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, m, n, o, p = 100 µm; m = 50 µm; b = 25 µm; l, q, r = 20 µm.

Três tipos de tricomas unisseriados foram identificados. O primeiro tipo é um tricoma glandular flagelado, frequentemente documentado para espécies de *Baccharis* (Budel; Duarte, 2009; Budel *et al.*, 2018a; Manfron *et al.*, 2022). O corpo do tricoma é formado por 4 a 6 células secretoras, assemelhando-se ao formato retangular enquanto que a célula apical é tubular,

flageliforme e contém substâncias lipofílicas densas. Eles são encontrados em *B. articulata* (Figura 6a), *B. jocheniana* (Figura 6d), *B. junciformis* (Figura 6e), *B. milleflora* (Figura 6h), *B. pentaptera* (Figura 6k) e *B. subtropicalis* (Figura 6o).

O segundo tipo de tricoma unisseriado é o tricoma tector armado, que consiste em 2–3 células no corpo e possui uma célula apical pontiaguda com paredes espessas. Este tipo de tricoma é encontrado em *B. myriocephala* (Figura 6j) e *B. riograndensis* (Figura 6n). Tricomas armados também foram identificados em outras carquejas, como *B. crispa* e *B. triangularis* (Rodriguez, Gattuso; Gattuso, 2013; Martinez *et al.*, 2018). O terceiro tipo de tricoma unisseriado é o tricoma tector clavado, que tem o corpo formado por 3 a 4 células e a célula apical tem forma de clava. Está presente em *B. trimera* (Figuras 6q, r) e também foi evidenciado por autores anteriores para essa mesma espécie (Budel; Duarte, 2009; Martinez *et al.*, 2018; Minteguiaga *et al.*, 2018).

Focando apenas nos tipos de tricomas, tricomas bisseriados glandulares com um par de drusas em *B. articulata*, *B. junciformis* e *B. subtropicalis* e tricomas tectores clavados unisseriados em *B. trimera* podem ser facilmente distinguidos das demais espécies de carqueja. Entretanto para *B. jocheniana*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera* e *B. riograndensis*, são necessários marcadores anatômicos adicionais para diferenciar estas espécies de forma eficaz.

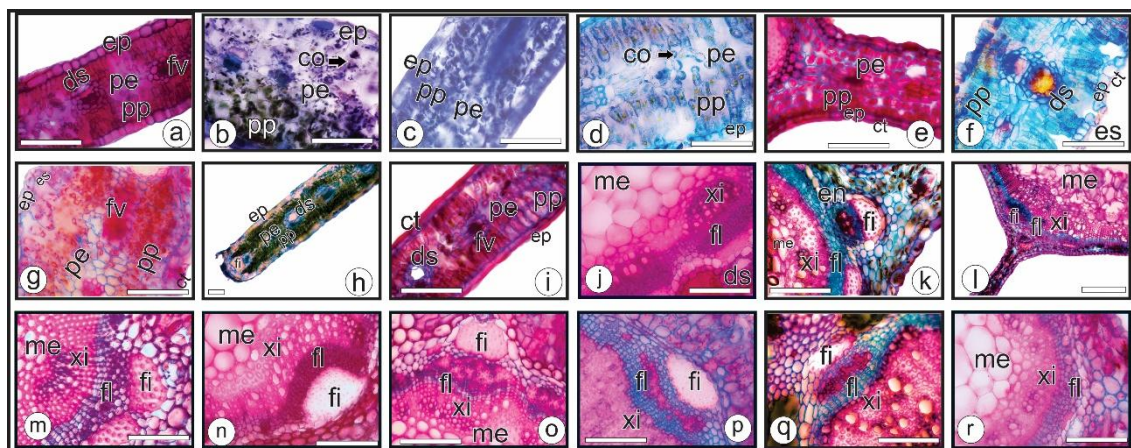
A densidade dos tufo de tricomas difere significativamente entre as espécies de *Baccharis*, conforme indicado pelas diferenças estatísticas marcadas por letras diferentes. *Baccharis pentaptera* mostrou a maior densidade de tufo de tricomas ($9,9 \pm 0,73^d$), seguida de perto por *B. riograndensis* ($9,1 \pm 0,87^d$), com ambas as espécies apresentando densidades significativamente maiores que as demais. *Baccharis articulata* ($6,1 \pm 0,99^a$) e *B. myriocephala* ($3,3 \pm 0,48^c$) apresentaram valores intermediários. Por outro lado, *B. jocheniana* ($2,3 \pm 0,48^b$), *B. trimera* ($2,1 \pm 0,56^b$), *B. milleflora* ($2,00 \pm 0,66^{bf}$), *B. junciformis* ($1,5 \pm 0,52^{be}$) e *B. subtropicalis* ($1,1 \pm 0,31^{ef}$) apresentaram as menores densidades.

As alas dos cladódios, em secção transversal, possuem epiderme unisseriada coberta por cutícula delgada (Figura 3j-q) que reagiu positivamente com Sudan III evidenciando a presença de compostos lipofílicos. Em relação ao parênquima fotossintético, todas as espécies apresentam organização isobilateral, como mostra a Figura 7 (a-i), compreendendo duas camadas de parênquima paliçádico em ambos os lados e duas camadas de parênquima esponjoso na região central. Esta característica foi relatada para diversas espécies de carquejas (Budel; Duarte, 2009; Manfron *et al.*, 2022; Minteguiaga *et al.*, 2018). Os corpos oleosos estão presentes no clorênquima (paliçádico e esponjoso) de *B. jocheniana* (Figura 7b), *B. milleflora*

(Figura 7d), *B. myriocephala* (Figura 7e, Figura 9c) e *B. riograndensis* (Figura 7h). Este é o primeiro relato descrevendo corpos oleosos em cladódios de carqueja, que apoiam a identificação da espécie. No entanto, Budel *et al.* (2018a) relatou corpos oleosos nas folhas de *B. illinita* DC., *B. microdonta*, *B. punctulata*, *B. reticularioides* Deble & A.S.Oliveira e *B. sphenophylla*.

Pequenos feixes vasculares colaterais circundados por uma bainha parenquimática atravessam a parênquima esponjoso (Figuras 7a, e, g, i). Alguns feixes vasculares menores estão dispostos em maneira invertida. Um ou mais ductos secretores (Figuras 7a, f, h, i) compostos por epitélio unisseriado, citoplasma denso, núcleo evidente e conteúdo lipofílico podem ser encontrados próximos a bainha parenquimática em direção ao floema. Ductos secretores semelhantes eram comumente relatados na espécie *Baccharis*, como por exemplo, *B. calvescens* DC., *B. platypoda* DC., *B. stylosa* Gardner e *B. trimera* (Budel; Duarte, 2009; Minteguiaga *et al.*, 2018; Ornellas *et al.*, 2019).

Figura 7. Anatomia dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: o autor.

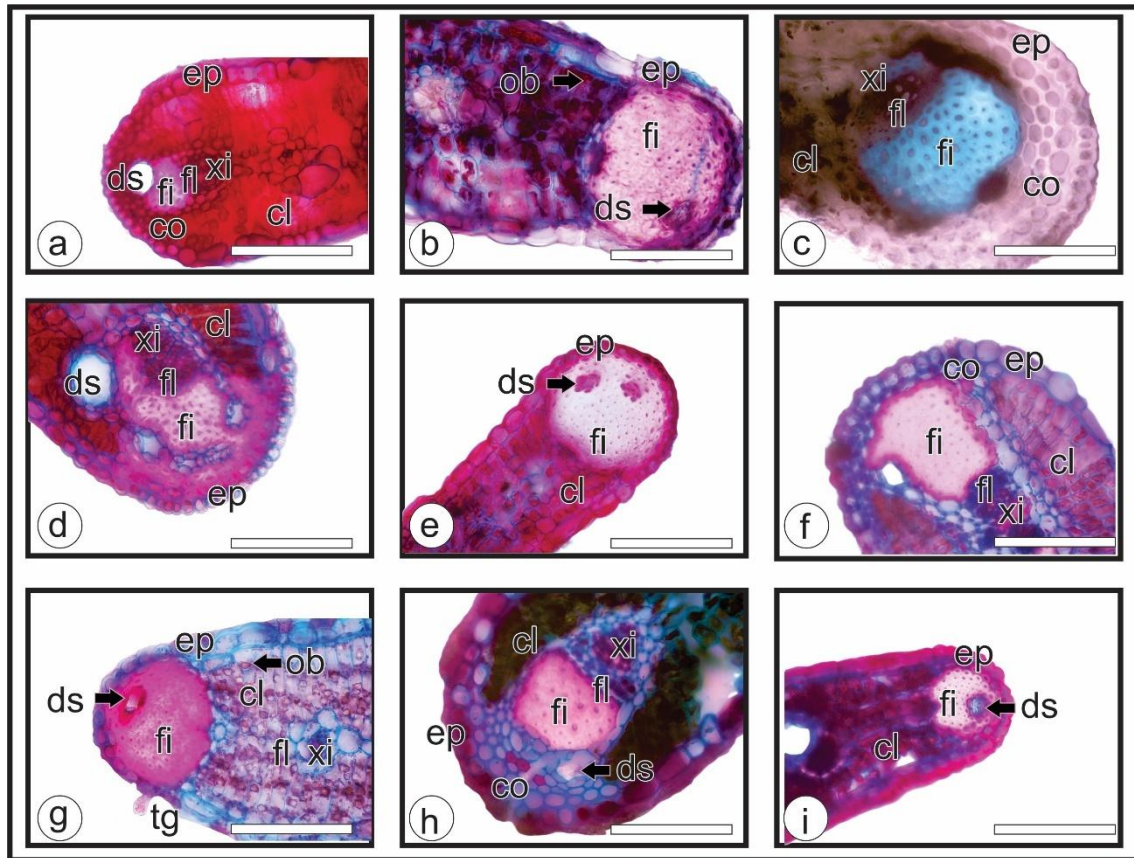
Notas: Microscopia de luz demonstrando a anatomia dos cladódios (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, q, r). *Baccharis articulata* (a, j); *B. jocheniana* (b, k); *B. junciformis* (c, l); *B. milleflora* (d, m); *B. myriocephala* (e, n); *B. pentaptera* (f, o); *B. riograndensis* (g, p); *B. subtropicalis* (h, q); *B. trimera* (i, r). co: corpos oleosos; ct: cutícula; ds: ducto secretor; ep: epiderme; es: estômato; fi: fibra; fl: floema; fv: feixe vascular; me: medula; pe: parênquima esponjoso; pp: parênquima paliçádico; tg: tricoma glandular; xi: xilema. Barra de escala: h, l = 300 µm a-g, i-k, m, r = 100 µm.

Todas as espécies exibem um feixe vascular colateral com uma capa de fibra perivascular adjacente ao floema (Figura 7j-r), e os ductos secretores estão ausentes ou presentes em números variados nas bordas das alas de *B. articulata*, *B. milleflora*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*. O número dos ductos secretores parece variar, como evidenciado em *B. trimera* por Minteguiaga *et al.* (2018). Para todas as espécies, a epiderme do eixo do caule apresenta características semelhantes às das alas. Abaixo na

epiderme, o clorênquima alterna com o colênquima angular, que consiste em 2–5 camadas (Figuras 7j–r). Ductos secretores, semelhantes aos observados nas alas, são encontrados adjacentes à endoderme, que limita a parte interna do córtex e tem paredes impregnadas com compostos lipofílicos (Figuras 7j–r). O cilindro vascular contém um xilema produtor de câmbio para dentro e para fora do floema (Figuras 7j–r). As capas de fibras perivasculares são adjacentes ao floema e algumas fibras também podem ser encontradas dentro do floema. A medula é composta por células parenquimatosas relativamente grandes e de paredes finas (Figura 7j–r), contendo cristais.

Nas bordas das alas, uma única camada de colênquima angular está presente abaixo da epiderme em *B. articulata*, *B. junciformis*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis* como mostra a Figura 8 (a, c, f, h), distinguindo-os de outras carquejas estudadas (Quadro 2). Esta característica também foi observada em *B. microcephala* e *B. penningtonii* por Martínez *et al.* (2018), que observou que a presença ou ausência de colênquima subepidérmica nas bordas das alas é uma característica distintiva entre certas espécies de carqueja, como evidenciado no presente estudo.

Figura 8. Anatomia do bordo das alas das espécies de carqueja.



Fonte: O autor.

Notas: Microscopia de luz demonstrando a anatomia dos cladódios (a, b, c, d, e, f, g, h, i). *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c); *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f); *B. riograndensis* (g); *B. subtropicalis* (h); *B. trimera* (i). co: colênquima; cl: clorênquima; ds: ducto secretor; ep: epiderme; fi: fibra; fl: floema; tg: tricoma glandular; ob: corpo oleoso; xi: xilema. Barra de escala: a-i = 100 μ m.

Quadro 2. Características anatômicas dos tricomas e colênquima angular nas bordas das alas para diferenciação das espécies de carqueja.

Espécies Anatomia	<i>B.</i> <i>articulata</i>	<i>B.</i> <i>jocheniana</i>	<i>B.</i> <i>junciformis</i>	<i>B.</i> <i>milleflora</i>	<i>B.</i> <i>myriocephala</i>	<i>B.</i> <i>pentaptera</i>	<i>B.</i> <i>riograndensis</i>	<i>B.</i> <i>subtropicalis</i>	<i>B.</i> <i>trimera</i>
Tricoma glandular bisseriado com par de drusas	+	-	+	-	-	-	-	+	-
Tricoma glandular unisseriado flageliforme	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Tricoma tector unisseriado armado	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Tricoma tector unisseriado clavado	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Densidade de tufo de tricoma	6.1 ± 0.99 ^a	2,3 ± 0,48 ^b	1,5 ± 0,52 ^{bc}	2.00 ± 0.66 ^{bf}	3.3 ± 0.48 ^c	9.9 ± 0.73 ^d	9.1 ± 0.87 ^d	1,1 ± 0,31 ^{ef}	2.1 ± 0.56 ^b
Corpos oleosos no clorênquima	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Colênquima angular nas bordas das alas	+	-	+	-	-	+	-	+	-

Fonte: O autor.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa em $p < 0,05$ (ANOVA unidirecional com teste de post hoc HSD de Tukey); média e desvio padrão de 10 campos com ampliação de 40×. + Presente; - Ausente.

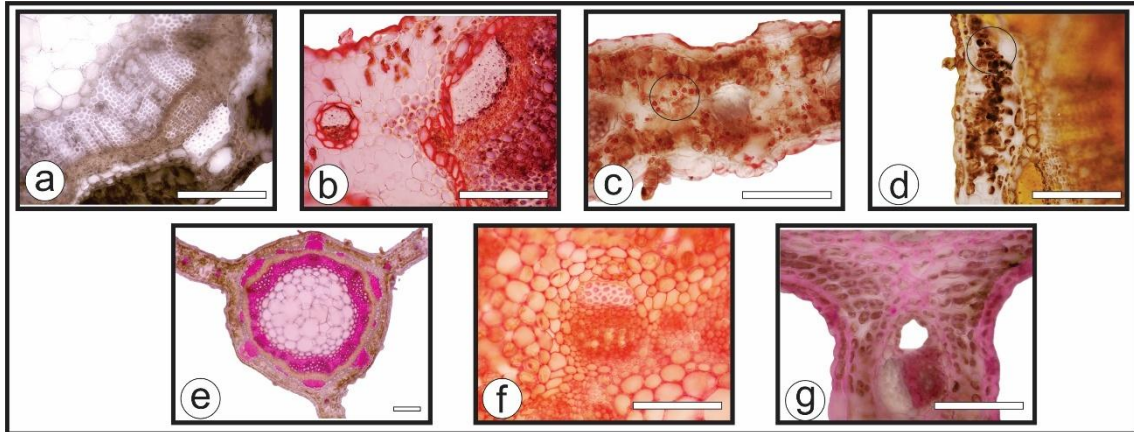
5.2 ANÁLISE HISTOQUÍMICA

Os testes histoquímicos indicaram a presença de diferentes classes de metabólitos e componentes estruturais nos cladódios das espécies avaliadas, com padrões de distribuição compatíveis com a anatomia secretora e com a organização dos tecidos fotossintéticos e de sustentação. Reações positivas com cloreto férrico e dicromato de potássio evidenciaram compostos fenólicos em todas as espécies, com maior intensidade no colênquima (Figura 9a). Esse padrão é consistente com o acúmulo de fenólicos em tecidos expostos à luz e ao estresse ambiental, sugerindo função associada à proteção e ao balanço redox, além de possível contribuição para caracteres diagnósticos quando a distribuição tecidual é recorrente entre táxons (Quadro 3).

A presença de constituintes lipofílicos foi corroborada por Sudan III, Sudan Black e Oil Red O, que evidenciaram material lipofílico na cutícula e em estruturas secretoras, incluindo tricomas glandulares, epitélio secretor de ductos e endoderme (Figura 9b). Adicionalmente, foram observados corpos oleosos em *B. jocheniana*, *B. milleflora*, *B. myriocephala* (Figura 9c) e *B. riograndensis*, reforçando diferenças inter-específicas relevantes no armazenamento e/ou secreção de componentes lipofílicos. O lugol indicou grãos de amido em *B. myriocephala* (Figura 9d), *B. subtropicalis* e *B. trimera*, sobretudo em tecidos de reserva, enquanto Floroglucinol/HCl evidenciou elementos lignificados, com reação positiva em xilema e fibras de todas as espécies (Figura 9e). O Vermelho de Rutênio indicou substâncias pécticas, com marcação particularmente evidente no colênquima (Figura 9f), o que é coerente com o papel desse tecido em sustentação com paredes primárias ricas em pectinas.

Quanto aos ensaios negativos, os reagentes Dragendorff, Ellram e Wagner não indicaram presença detectável de alcaloides nas condições empregadas. Os corantes proteicos (Coomassie Brilliant Blue e Xylidine Ponceau) não evidenciaram corpos proteicos de forma consistente nas amostras avaliadas, enquanto o reagente de Schiff (PAS) apresentou reação positiva para polissacarídeos em regiões como cutícula, colênquima e medula (Figura 9g), sugerindo a presença de constituintes ricos em carboidratos em paredes e/ou conteúdos celulares. Em conjunto, os resultados histoquímicos sumarizados no Quadro 3 e ilustrados na Figura 9 complementam os dados morfoanatômicos e micromorfológicos, oferecendo suporte adicional à interpretação de tecidos secretórios e de reserva e ao estabelecimento de marcadores úteis ao controle da qualidade.

Figura 9. Histoquímica dos cladódios das espécies de carqueja.



Fonte: O autor.

Notas: histoquímica dos cladódios (a, b, c, d, e, f, g, h). Compostos fenólicos em *Baccharis articulata* (a); compostos lipofílicos em *B. myriocephala* (b); compostos lipofílicos evidenciando os corpos oleosos em *B. myriocephala* (c); grãos de amido em *B. myriocephala* (d); lignina em *B. myriocephala* (e); pectina em *B. milleflora* (f); polissacarídeo em *B. trimera* (g). Barra de escala: a-h = 100 μm.

Quadro 3. Reações histoquímicas das espécies de carqueja.

Espécies Anatomia	<i>B. articulata</i>	<i>B. jocheniana</i>	<i>B. junciformis</i>	<i>B. milleflora</i>	<i>B. myriocephala</i>	<i>B. pentaptera</i>	<i>B. riograndensis</i>	<i>B. subtropicalis</i>	<i>B. trimera</i>
Compostos fenólicos	células do clorênquima								
Compostos lipofílicos	cutícula, tricomas glandulares, epitélio secretor dos ductos e endoderme								
Grãos de amido	negativo				região medular	negativo		região medular	
Lignina	fibras e xilema								
Pectina	colênquima								
Alcaloides	negativo								
Corpos proteicos	negativo								
Polissacarídeo	cutícula, colênquima e medula								

Fonte: O autor.

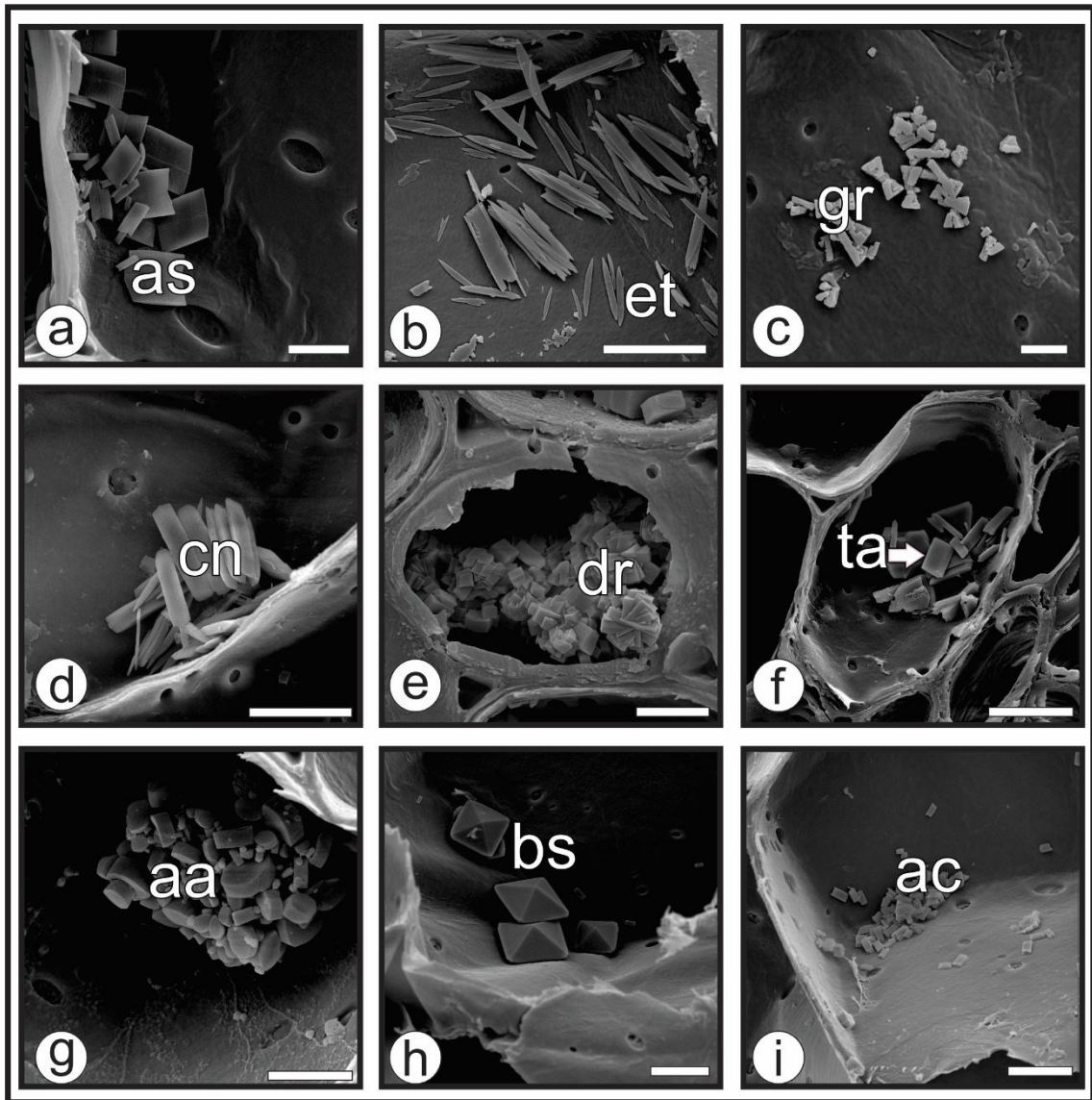
5.3 ANÁLISE DOS CRISTAIS

A forma e a localização dos cristais dentro de determinados táxons são consistentes e específicas, permitindo que sejam utilizados como marcadores anatômicos para a identificação de uma espécie, um corte, ou mesmo um gênero (Franceschi; Nakata, 2005; He *et al.*, 2012). Recentemente, Raeski *et al.* (2023a) estudaram quarenta e quatro espécies de *Baccharis* e forneceram um relato abrangente dos morfotipos de cristais de oxalato de cálcio encontrado dentro do gênero. Num estudo subsequente, Raeski *et al.* (2023b) determinaram onze tipos detalhados de cristais em *B. articulata*, incluindo bipiramidais (simples e retangulares), areias piramidais retangulares, cuneiformes, tabulares, em forma de seta, areias cristalinas, estiloides e drusas. Eles afirmaram que esses tipos de cristais podem servir como marcadores anatômicos para o complexo de carqueja dentro do gênero *Baccharis*. No presente estudo, os mesmos morfotipos foram encontrados em *B. articulata* e foram comparadas com as demais carquejas, conforme resumido na Quadro 4.

Entre os caracteres mais discriminativos, cristais bipiramidais retangulares e em forma de seta foram observados exclusivamente em *B. articulata*. Cristais bipiramidais simples ocorreram em *B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*. A ocorrência de areia cristalina foi registrada em *B. articulata*, *B. myriocephala*, *B. riograndensis* e *B. trimera*, enquanto conformações específicas de areia cristalina, como o padrão em “gravata”, foram observadas em *B. articulata* e *B. junciformis*, e a areia cristalina arredondada em *B. articulata* e *B. riograndensis*. Cristais cuneiformes foram amplamente distribuídos, ocorrendo em *B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. myriocephala*, *B. pentaptera*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*.

Além disso, drusas foram observadas em *B. articulata* e *B. myriocephala*, enquanto cristais prismáticos quadrangulares ocorreram em *B. junciformis* e *B. myriocephala*. Estiloides apresentaram ampla ocorrência, sendo registrados em *B. articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis*, *B. subtropicalis* e *B. trimera*. Cristais tabulares foram encontrados em *B. articulata*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*, e cristais romboédricos em *B. articulata*, *B. jocheniana*, *B. junciformis* e *B. subtropicalis*. Em conjunto, esses resultados reforçam que a combinação entre morfotipos de cristais e sua distribuição entre espécies oferece um conjunto adicional de caracteres diagnósticos para o complexo “carquejas”, especialmente quando integrado a marcadores epidérmicos e estomáticos discutidos anteriormente. Exemplos representativos desses morfotipos de cristais estão apresentados na Figura 10.

Figura 10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cristais das espécies de carqueja.



Fonte: O autor.

Notas: microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cristais (a, b, c, d, e, f, g, h, i). Cristal em formato de seta em *Baccharis articulata* (a); estiloides em *B. jocheniana* (b); areia cristalina em formato de gravata em *B. junciformis* (c); cuneiforme em *B. milleflora* (d); drusa em *B. myriocephala* (e); tabular em *B. pentaptera* (f); areia cristalina em formato arredondado em *B. riograndensis* (g); bipyramidal simples em *B. subtropicalis* (h); areia cristalina em *B. trimera*. aa: areia cristalina em formato arredondado; ac: areia cristalina; as: cristal em formato de seta; bs: bipyramidal simples; cn: cuneiforme; dr: drusa; et: estiloide; gr: areia cristalina em formato de gravata; ta: tabular. Barra de escala: h = 20 μm ; b, d, f, i = 10 μm ; a, e, g = 5 μm ; c = 2 μm

Quadro 4. Tipos de cristais encontrados nas espécies de carqueja.

Espécies	<i>B. articulata</i>	<i>B. jocheniana</i>	<i>B. junciformis</i>	<i>B. milleflora</i>	<i>B. myriocephala</i>	<i>B. pentaptera</i>	<i>B. riograndensis</i>	<i>B. subtropicalis</i>	<i>B. trimera</i>
Tipo do cristal									
Forma de seta	+	-							
Bipiramidal retangular	+	-							
Bipiramidal simples	+	-	+		-	+	-	+	-
Areia Cristalina	+	-			+	-	+	-	+
Areia cristalina em formato de gravata	+	-	+	-					
Areia cristalina em formato arredondado	+	-			+	-	+	-	
Cuneiforme	+	-	+				-	+	
Drusa	+	-			+	-			
Quadrangular prismático	-	-	+	-	+	-			
Estiloide	+				-	+			
Tabular	+	-				+	-	+	-

Fonte: O autor.

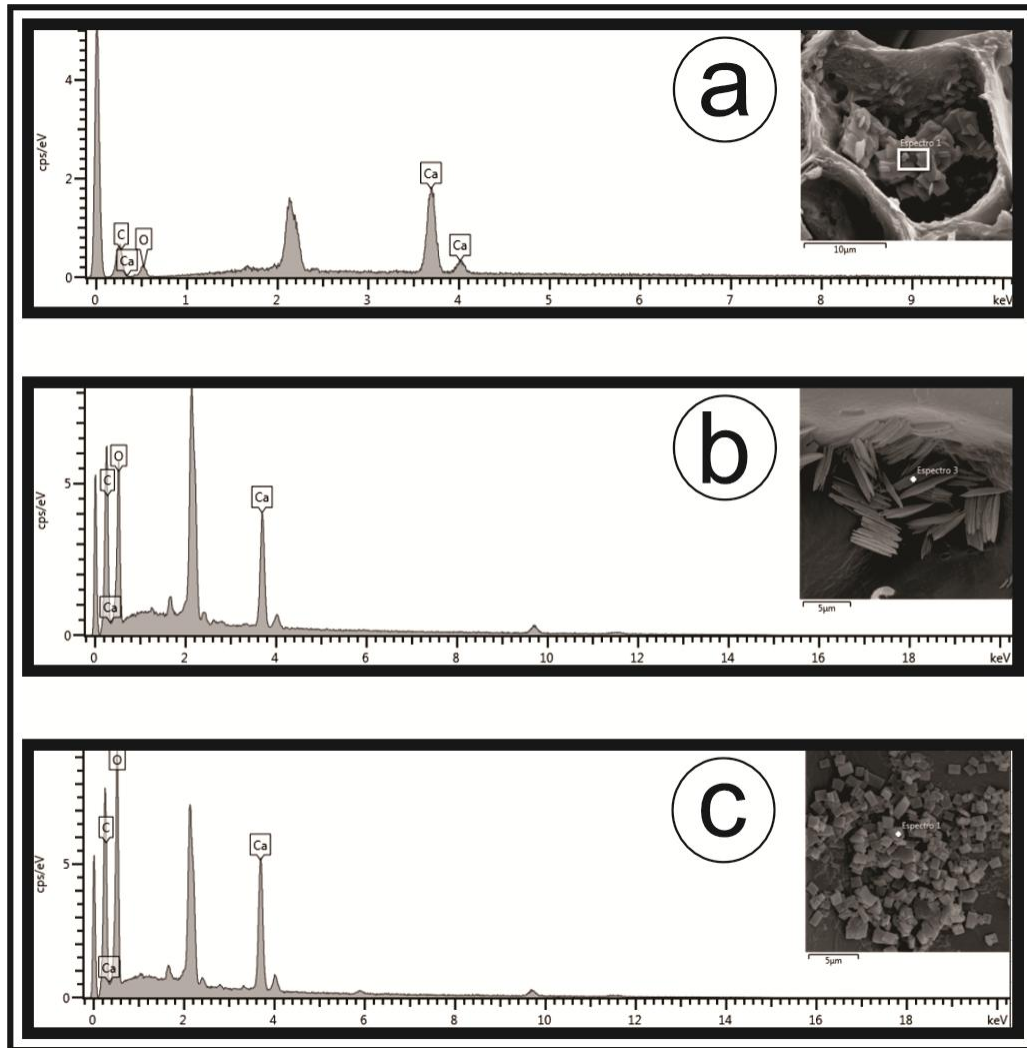
Notas: + Presente; - ausente.

A composição elementar de cristais vegetais tem sido investigada por diversos autores por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDX), sobretudo para caracterizar biominerais ricos em cálcio e inferir sua natureza química quando interpretada em conjunto com morfologia e contexto anatômico (Raeski *et al.*, 2023a; Raeski *et al.*, 2023b; Zanolrenzi *et al.*, 2023). No presente estudo, os espectros EDX dos cristais das nove espécies analisadas foram dominados por picos de Ca e O (Figuras 11-13), um padrão compatível com biominerais à base de cálcio e consistente com cristais de oxalato de cálcio quando considerado em conjunto com os morfotipos observados (por exemplo, drusas, estiloides e areias cristalinas). Ressalta-se, contudo, que o EDX fornece composição elementar, portanto, a confirmação inequívoca do ânion (oxalato versus outras formas) demandaria técnicas complementares, como micro-Raman, FTIR ou DRX, quando necessário.

O pico proeminente não marcado próximo a 2 keV corresponde ao ouro (Au), utilizado na metalização das amostras para MEV, e não integra a composição intrínseca dos cristais analisados (Figuras 11-13). Ainda assim, os resultados reforçam a recorrência de inclusões cálcicas em *Baccharis* e sustentam o uso integrado de morfologia dos cristais e anatomia como conjunto de marcadores úteis em farmacobotânica aplicada.

De modo mais amplo, múltiplos estudos demonstram que caracteres morfoanatômicos e micromorfológicos possuem alta utilidade para identificação e diferenciação de espécies morfológicamente semelhantes, inclusive em materiais fragmentados, cenário típico de drogas vegetais comerciais (Antunes *et al.*, 2023a; Antunes *et al.*, 2023c; Antunes *et al.*, 2024; Budel; Duarte, 2009; Ornellas *et al.*, 2019; Zanolrenzi *et al.*, 2023). No presente trabalho, foram reconhecidos parâmetros anatômicos com potencial diagnóstico para diferenciar espécies de carqueja, porém recomenda-se validação adicional com maior número de populações e amostras comerciais, considerando que alguns caracteres podem apresentar variação intraespecífica associada a fatores ambientais e ontogenéticos.

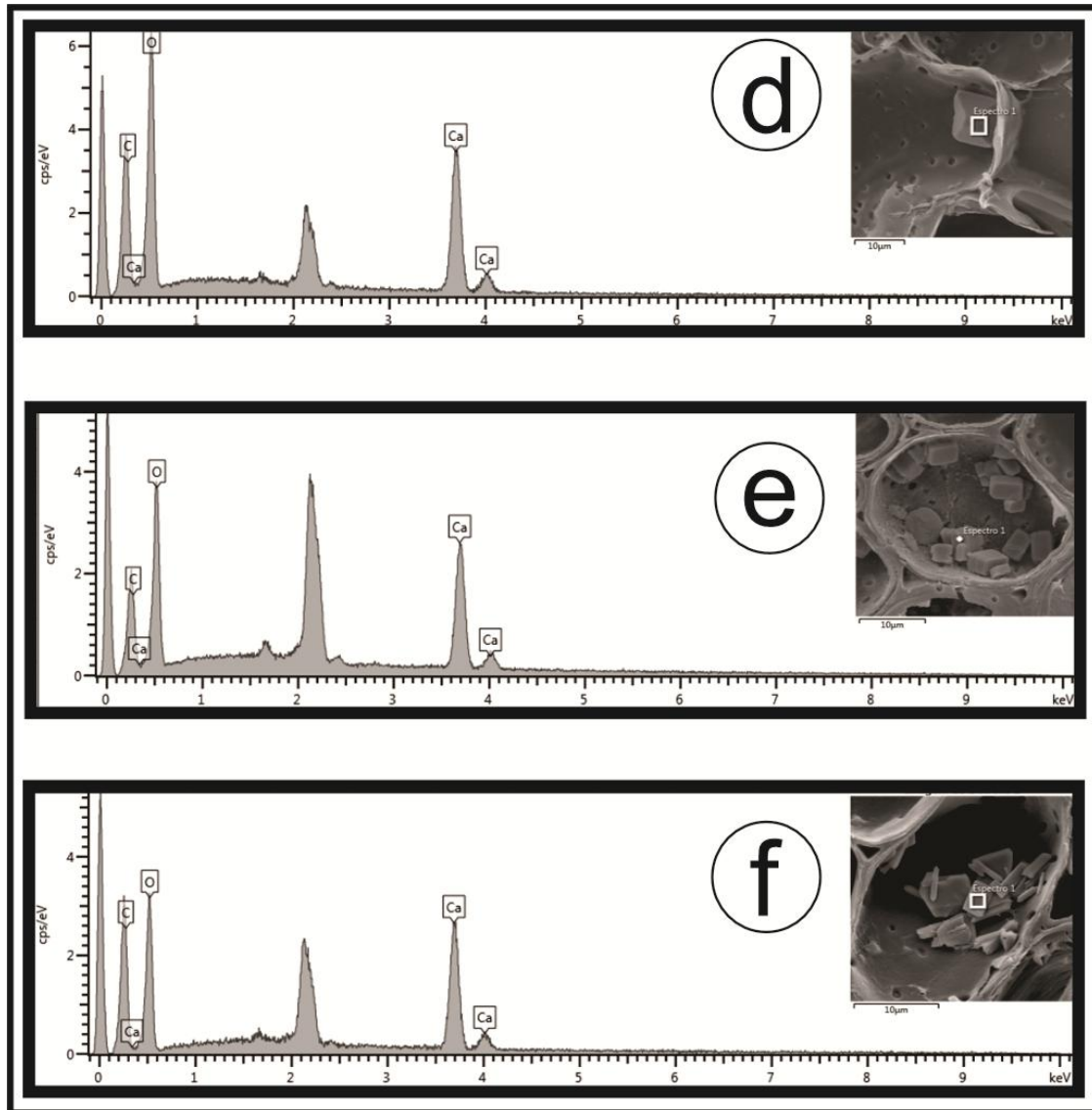
Figura 11. Espectroscopia dispersiva de raio x dos cristais das espécies de *Baccharis* (carquejas).



Fonte: O autor.

Notas: EDS (a, b, c). *Baccharis articulata* (a); *B. jocheniana* (b); *B. junciformis* (c).

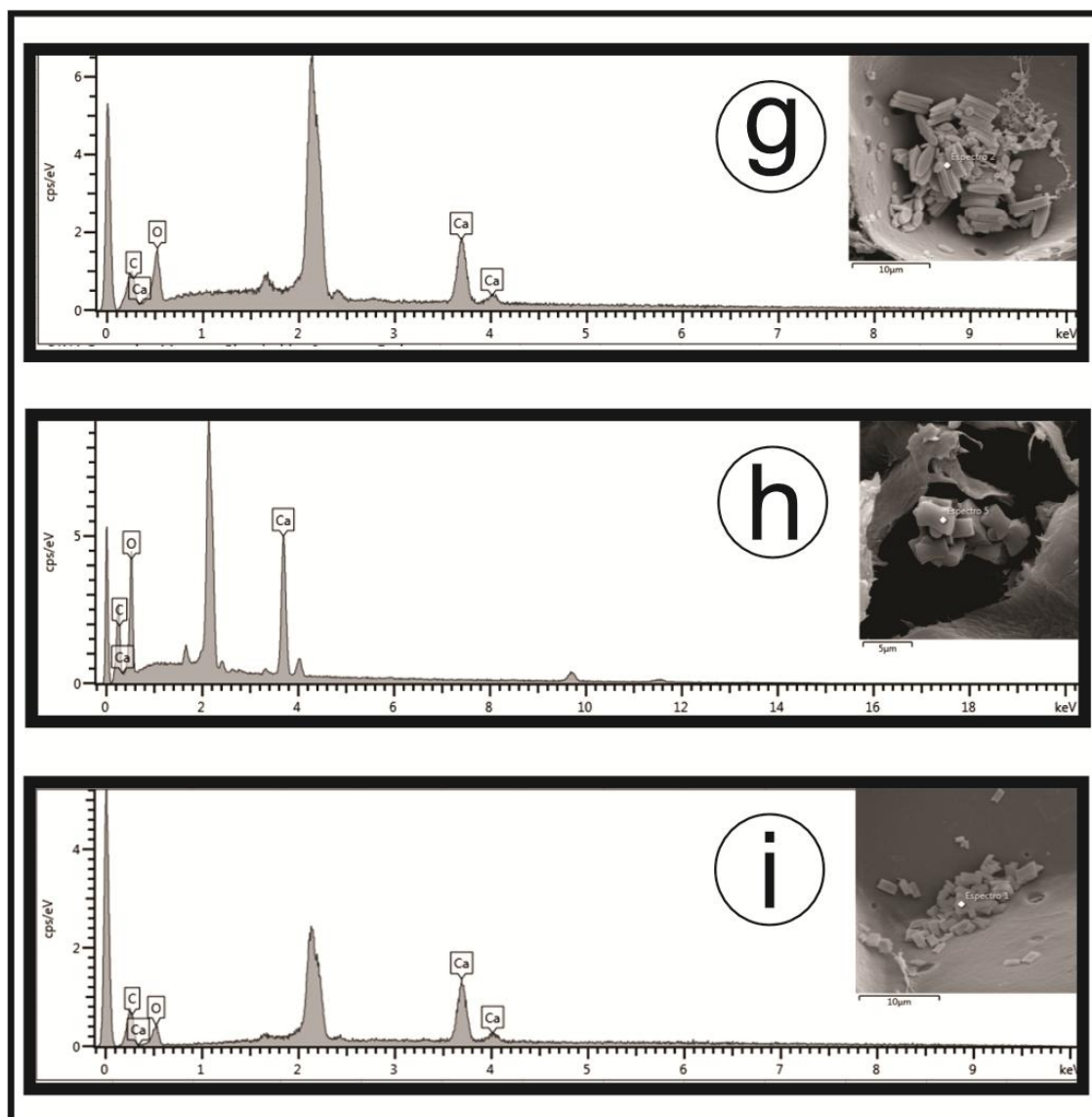
Figura 12. Espectroscopia dispersiva de raio x dos cristais das espécies de *Baccharis* (carquejas).



Fonte: O autor.

Notas: EDS (d, e, f). *B. milleflora* (d); *B. myriocephala* (e); *B. pentaptera* (f).

Figura 13. Espectroscopia dispersiva de raio x dos cristais das espécies de *Baccharis* (carquejas).



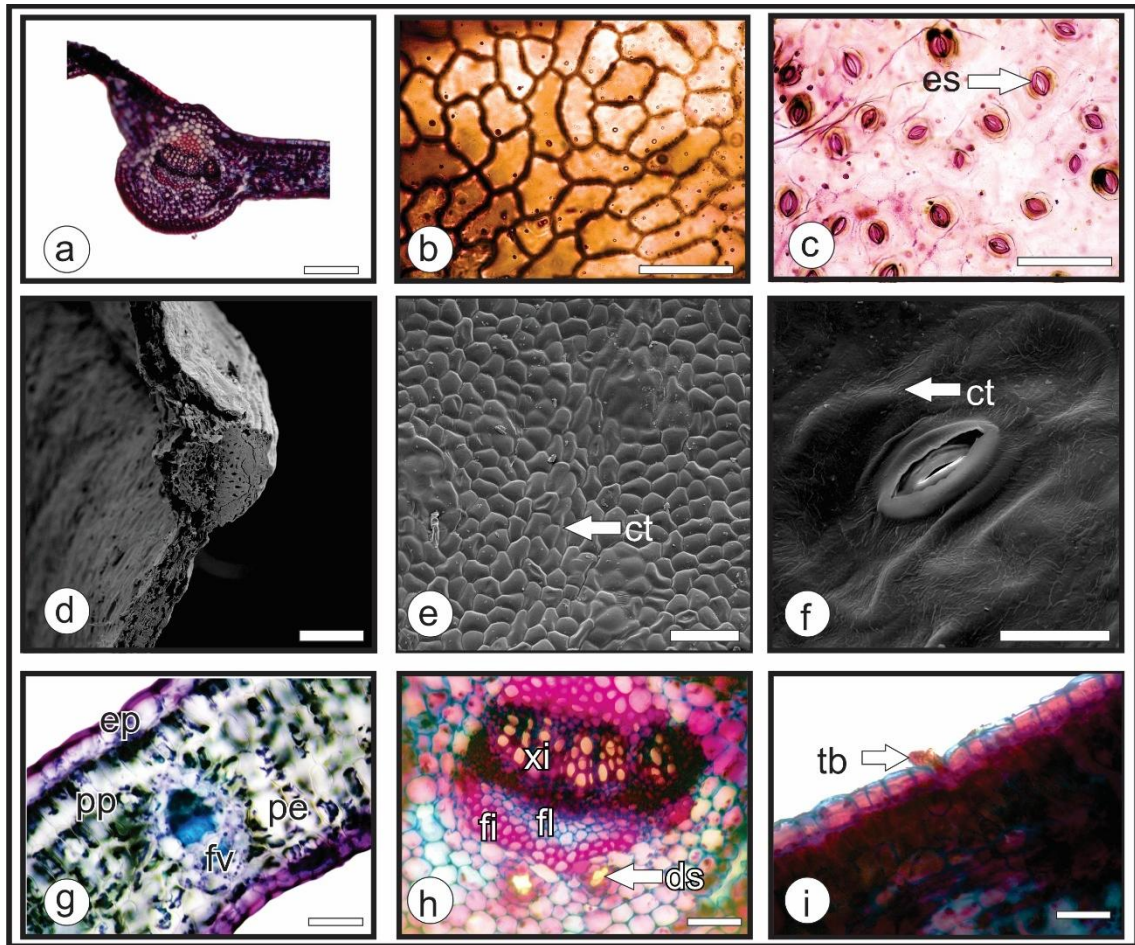
Fonte: O autor.

Notas: EDS (g, h, i). *B. riograndensis* (g); *B. subtropicalis* (h) *B. trimera* (i).

5.4 ANÁLISE DAS FOLHAS DE *Baccharis junciformis*

Baccharis junciformis foi a única espécie de *Baccharis* do estudo que apresentou folhas desenvolvidas. Embora o farmacógeno tradicionalmente usado nas carquejas seja constituído pelos cladódios, as folhas também foram analisadas, uma vez que sua presença pode ocorrer em amostras comerciais do material vegetal, configurando potencial adulteração da droga vegetal. Mesmo considerando a droga pulverizada a análise microscópica permite identificar a presença fragmentos foliares, uma vez que os cladódios apresentam organização de tecidos e elementos botânicos distintos da folha. As análises são mostradas na Figura 14.

Figura 14 – Caracteres microscópicos da folha de *Baccharis junciformis*.



Fonte: O autor.

Notas: Microscopia de luz, coloração com Azul de Astra e Fucsina Básica e coloração de Azul de Toluidina (a g-i); Diafanização com Safranina (b-c); Microscopia eletrônica de varredura (d-f). ct: cutícula; ds: ducto secretor; ep: epiderme; es: estômato; fi: fibra; fl: floema; fv: feixe vascular; pe: parênquima esponjoso; pp: parênquima paliádico; tb: tricoma bisseriado; xi: xilema. Barra de escala: a, c, g, h, i = 200 µm; b, d, e = 100 µm; f = 20 µm.

A nervura central das folhas de *B. junciformis* apresentou formato biconvexo, como mostram as Figuras 14a e 14d. A epiderme é unisseriada e revestida por cutícula estriada, característica evidenciada nas Figuras 14b, 14c, 14e e 14f. Os estômatos são do tipo anomocítico e ocorrem exclusivamente na face abaxial da lâmina foliar, caracterizando a folha como hipoestomática. O mesofilo é dorsiventral com duas camadas de parênquima paliádico na face adaxial e cerca de 6-7 camadas de parênquima esponjoso, podendo apresentar tricomas bisseriados na epiderme, como mostram as Figuras 14g e 14i. A disposição dos feixes vasculares na nervura central é colateral, sendo que foram observados ductos secretores bem desenvolvidos próximos a esses, conforme ilustrado na Figura 14h.

Por fim, dentre essas nove espécies de carqueja apenas *B. articulata*, *B. milleflora* e *B. trimera* possuem estudos comprovando sua eficácia e segurança de uso como digestivo e diurético (Barboza *et al.*, 2001; Klider *et al.*, 2024; Rabelo; Costa, 2018). As outras espécies, *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. pentaptera*, *B. myriocephala*, *B. riograndensis* e *B. subtropicalis* carecem de tais estudos. Assim, ao fornecer marcadores anatômicos e micromorfológicos para discriminação das espécies, este estudo contribui para reduzir o risco de substituição e uso indevido de matérias-primas vegetais rotuladas genericamente como “carqueja”, apoiando ações de autenticação e controle da qualidade.

5.5 CHAVE DICOTÔMICA

Chave dicotômica para espécies de *Baccharis*

- 1a. Cladódios com 5 alas na base da planta no habitat *Baccharis pentaptera*
- 1b. Cladódios com 2 ou 3 alas no habitat 2
- 2a. Cutícula com estrias concêntricas ao redor dos estômatos *Baccharis myriocephala*
- 2b. Cutícula sem estrias concêntricas 3
- 3a. Folhas desenvolvidas no cladódio *Baccharis junciformis*
- 3b. Folhas reduzidas 4
- 4a. Cladódios com 2 alas em secção transversal *Baccharis articulata*
- 4b. Cladódios com 3 alas em secção transversal 5
- 5a. Paredes anticlinais onduladas; tricoma tector clavado presente ... *Baccharis trimera*
- 5b. Paredes anticlinais retas a levemente onduladas; tricoma tector clavado ausente..... 6
- 6a. Colênquima angular nas bordas das alas presente *Baccharis subtropicalis*
- 6b. Colênquima angular nas bordas das alas ausente 7
- 7a. Tricoma tector armado presente *Baccharis riograndensis*
- 7b. Tricoma tector armado ausente 8
- 8a. Corpos oleosos no colênquima presentes, tricoma glandular flageliforme ausente *Baccharis jocheniana*
- 8b. Corpos oleosos no colênquima presentes, tricoma glandular flageliforme presente *Baccharis milleflora*

5.6 DISTINÇÃO MORFOANATÔMICA ENTRE AS SEÇÕES *Caulopterae* E *Aphyllae*

Entre os caracteres com maior potencial distintivo entre as seções *Caulopterae* e *Aphyllae* destacaram-se aspectos relacionados às alas caulinares e aos tricomas. As espécies

atribuídas à seção *Caulopterae* apresentaram predominância de cladódios com três alas, além da ocorrência de tricomas tectores armados em *B. myriocephala* e *B. riograndensis*, e tricoma clavado exclusivamente em *B. trimera*.

Em contraste, as espécies da seção *Aphyllae* exibiram maior variabilidade no número de alas, podendo apresentar duas, três ou cinco expansões alares, além da presença do tricoma bisseriado com par de drusas. Adicionalmente, a presença de colênquima angular subepidérmico nas bordas das alas foi observada de forma consistente nas espécies de *Aphyllae* analisadas neste estudo.

5.7 ANÁLISE DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)

5.7.1 Método de identificação e validação do método

Inicialmente, foram avaliadas diferentes condições cromatográficas com a finalidade de selecionar o sistema mais adequado à diferenciação das espécies. Para a definição do método considerou a resolução das bandas, a reprodutibilidade dos perfis e a capacidade de discriminar *B. trimera* das demais espécies analisadas, baseando-se na metodologia da Farmacopeia Brasileira 7ª edição (Brasil, 2024). Após os ensaios comparativos, a condição cromatográfica selecionada para identificação e comparação dos perfis foi constituída pela fase móvel acetato de etila:tolueno:ácido fórmico (30:70:1, v/v), seguida de derivatização com Natural Product®. A leitura das placas foi realizada sob UV 254 nm, UV 366 nm e luz branca, antes e após derivatização, sendo a condição sob UV 366 nm após derivatização a que apresentou melhor capacidade discriminatória entre as espécies e, posteriormente, entre as amostras comerciais.

Os perfis cromatográficos observados neste estudo são consistentes com o panorama fitoquímico descrito para o gênero *Baccharis*, um dos grupos mais diversos da família Asteraceae nas regiões neotropicais. No presente estudo, as espécies de *Baccharis* foram diferenciadas principalmente por características dos cladódios, como número de alas, padrão da cutícula, presença de tricomas e organização dos tecidos. Esses caracteres estruturais têm sido reconhecidos como relevantes para o diagnóstico e a delimitação de espécies do gênero, especialmente em táxons com cladódios fotossintéticos e redução foliar, nos quais tricomas, tipo estomático, paredes epidérmicas e organização interna dos tecidos assumem valor taxonômico e farmacobotânico relevante (Antunes *et al.*, 2024; Budel *et al.*, 2009; Heiden *et al.*, 2018).

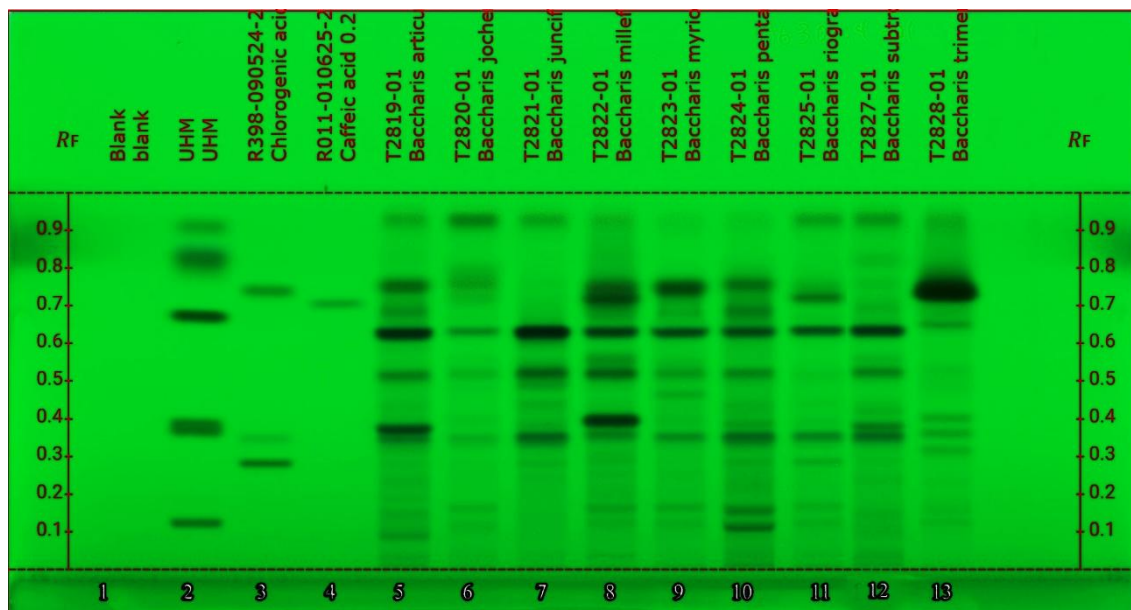
Além da dimensão fitoquímica, a interpretação dos resultados cromatográficos também pode ser contextualizada à luz da morfologia e anatomia das espécies analisadas. Estudos

quimiotaxonômicos indicam que espécies desse gênero apresentam predominância de flavonoides, ácidos fenólicos, lactonas sesquiterpênicas, óleos essenciais e diterpenos clerodânicos, compostos frequentemente associados às propriedades farmacológicas atribuídas às chamadas “carquejas”. Entre essas classes, os flavonoides e derivados de ácidos cafeoilquínicos são particularmente recorrentes e têm sido amplamente empregados como marcadores químicos em estudos fitoquímicos e farmacognósticos do gênero (Verdi; Brighente; Pizzolatti, 2005; Campos *et al.*, 2016).

Métodos cromatográficos constituem ferramentas amplamente empregadas no controle da qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos, especialmente devido à sua capacidade de gerar perfis químicos reprodutíveis e auxiliar na autenticação botânica, detecção de substituições e avaliação da constância química entre lotes. Nesse contexto, a cromatografia em camada delgada de alta eficiência destaca-se por combinar simplicidade operacional, baixo custo relativo e elevado poder discriminatório, permitindo a comparação simultânea de múltiplas amostras e padrões de referência em condições analíticas padronizadas. Além da identificação qualitativa de marcadores químicos, a técnica tem sido amplamente utilizada em estudos farmacognósticos e fitoquímicos para obtenção de perfis cromatográficos aplicáveis à garantia da qualidade de matérias-primas vegetais e produtos derivados (Krüger *et al.*, 2013; Raman *et al.*, 2018; Brasil, 2024).

Foi aplicado o método universal para flavonoides, com leitura sob UV 254 nm, UV 366 nm e luz branca, antes e após derivatização com Natural Product® e com Natural Product® associado ao *p*-anisaldeído (Figuras 15–21). Esse sistema permitiu evidenciar a presença de compostos fenólicos nas amostras analisadas. Entretanto, os perfis cromatográficos obtidos apresentaram baixa seletividade, com bandas de migração semelhante entre as espécies. Esse comportamento indica que o sistema empregado possuía polaridade acima do desejado para a diferenciação dos constituintes presentes nos extratos, limitando sua utilidade para discriminação taxonômica. Em cromatografia planar aplicada a drogas vegetais, a capacidade dos perfis cromatográficos depende fortemente da seletividade da fase móvel, sendo comum que sistemas inicialmente testados apresentem baixa resolução entre espécies quimicamente relacionadas (Fernandes *et al.*, 2025). Esse comportamento já foi relatado em análises cromatográficas de espécies como *B. articulata*, *B. dracunculifolia* e *B. trimera*, nas quais perfis cromatográficos semelhantes exigiram ajustes na composição da fase móvel para permitir maior separação das bandas avaliadas (Bonin *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2012).

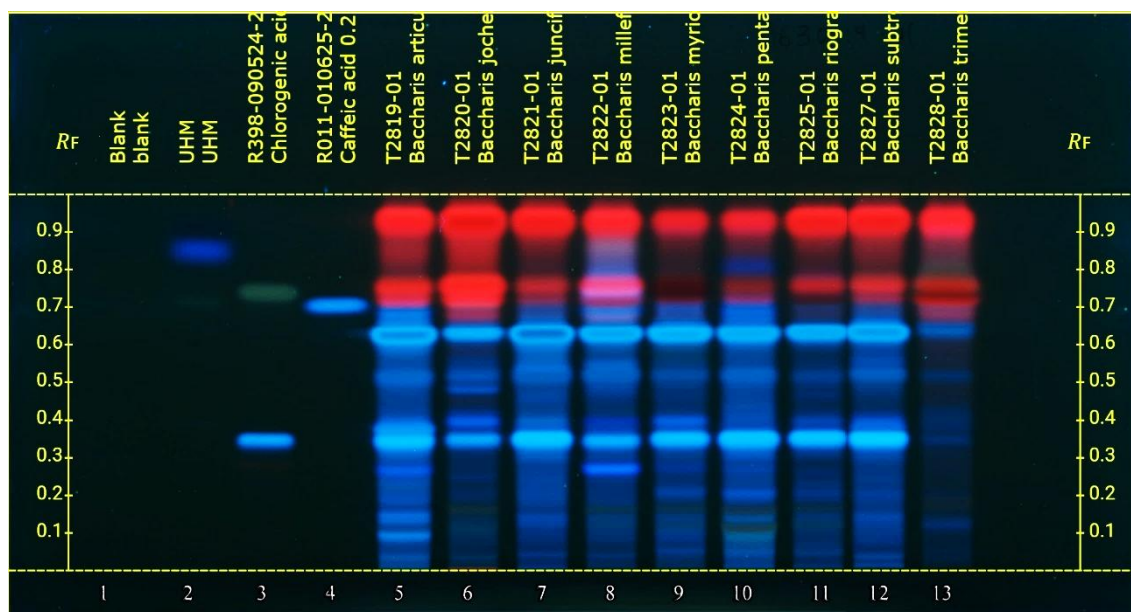
Figura 15 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 16 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.

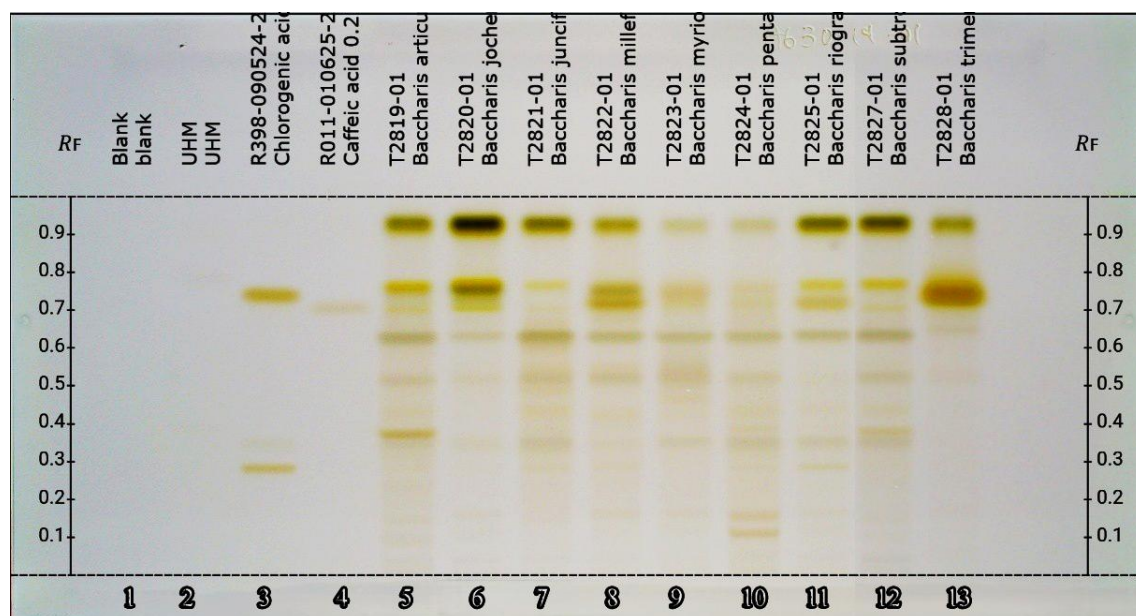


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8;

Baccharis myriocephala – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

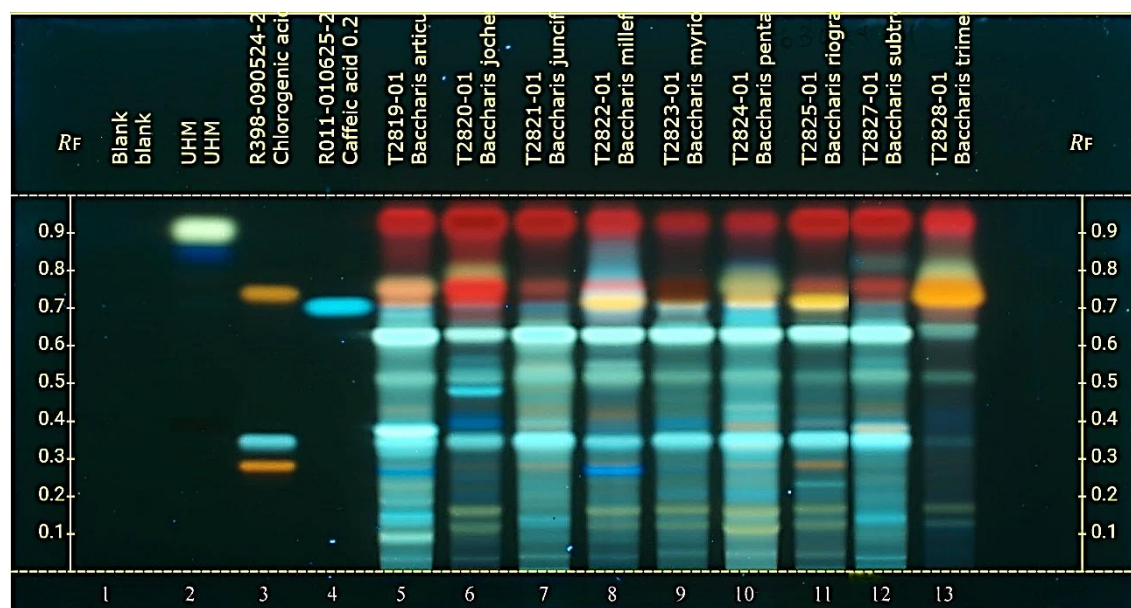
Figura 17 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

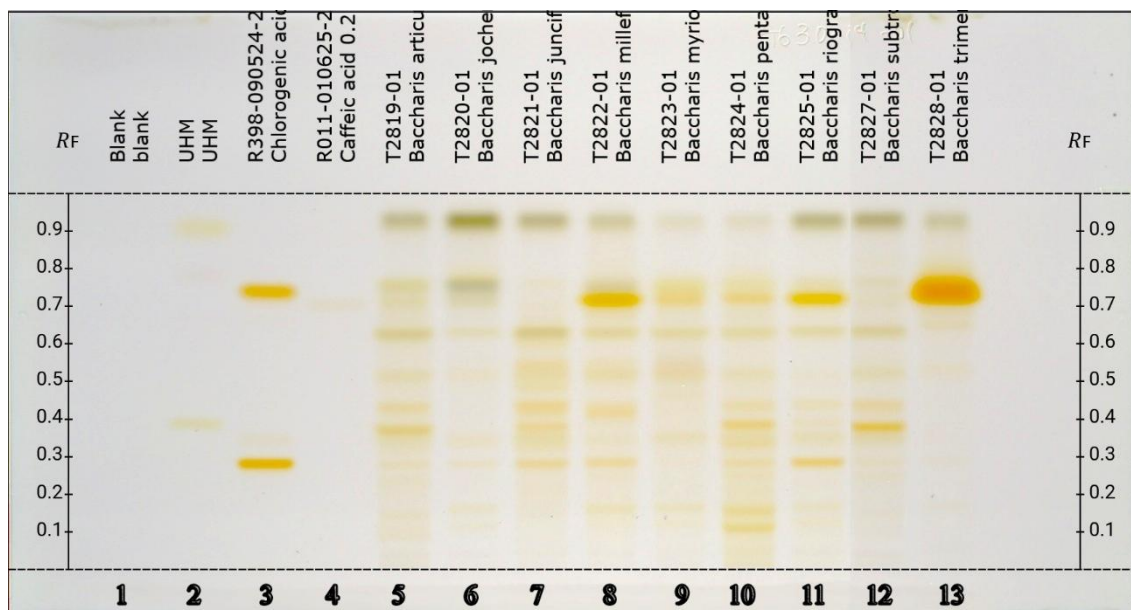
Figura 18 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; ácido clorogênico - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* - faixa 13.

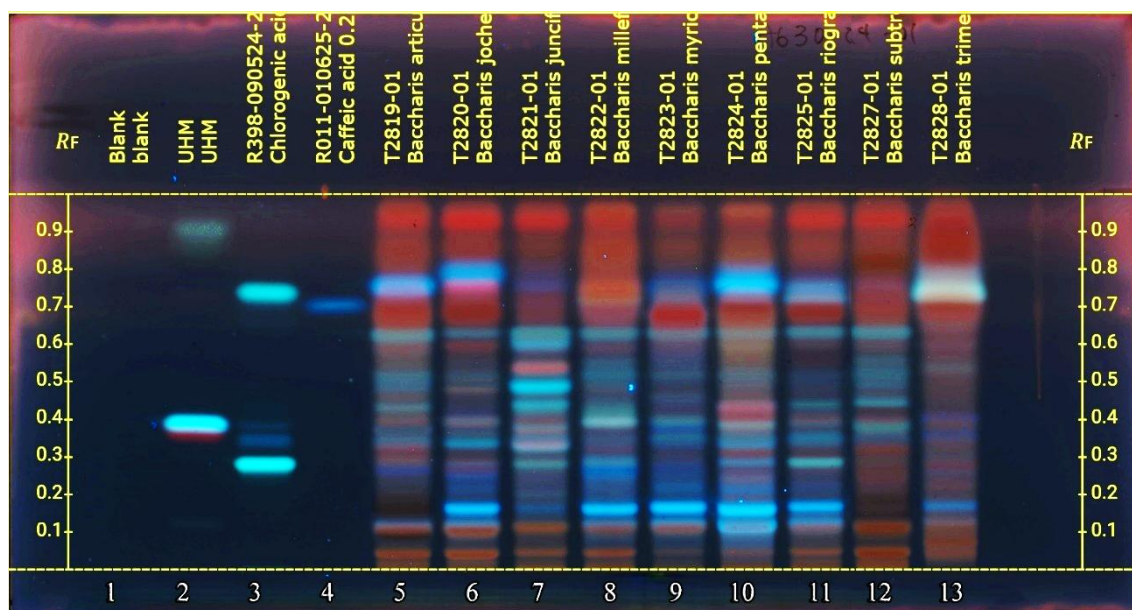
Figura 19 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; ácido clorogênico - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* - faixa 13.

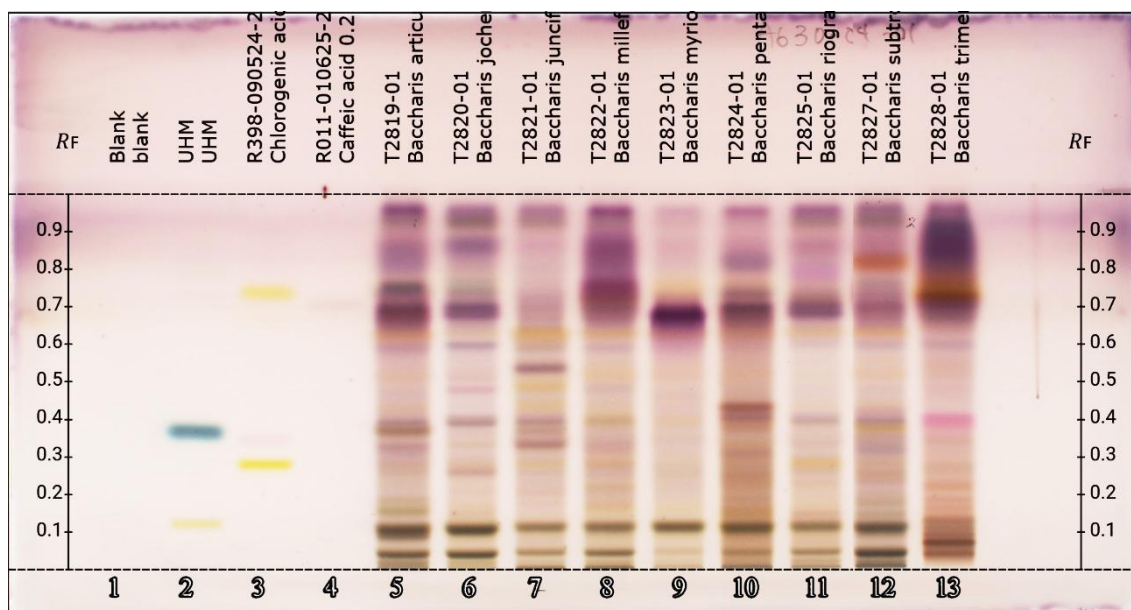
Figura 20 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 21 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.

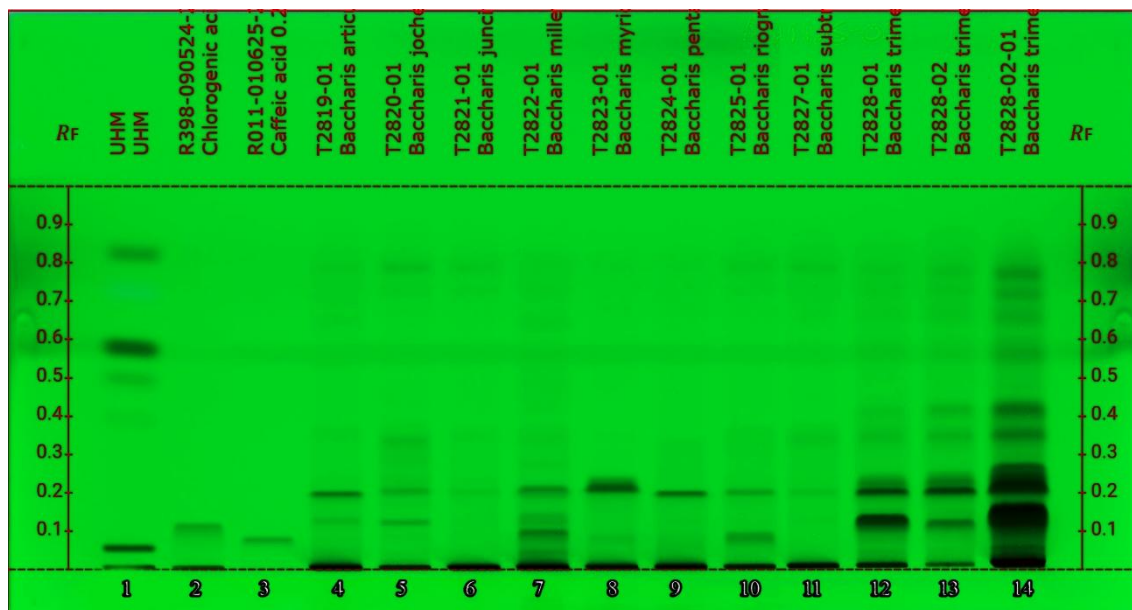


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

A seguir, foi avaliado o método descrito na Farmacopeia Brasileira para carqueja, com comparação entre o procedimento farmacopeico e extrações metanólicas obtidas por sonicação (Figuras 22–28). Observou-se melhora na organização do perfil cromatográfico das amostras quando comparado ao método universal para flavonoides, indicando maior adequação do sistema farmacopeico para a análise química de espécies de *Baccharis*. Essa observação é consistente com o fato de que *B. trimera* é a espécie oficial da droga vegetal “carqueja” na Farmacopeia Brasileira, cuja monografia reconhece a presença predominante de compostos fenólicos e flavonoides na espécie (Brasil, 2024).

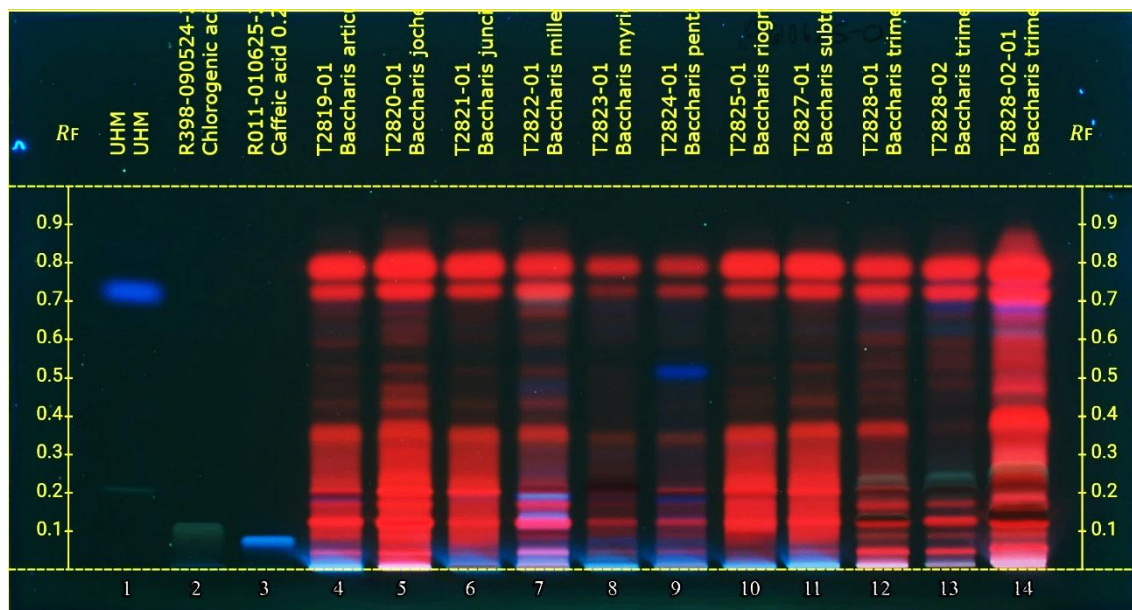
Figura 22 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2 mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

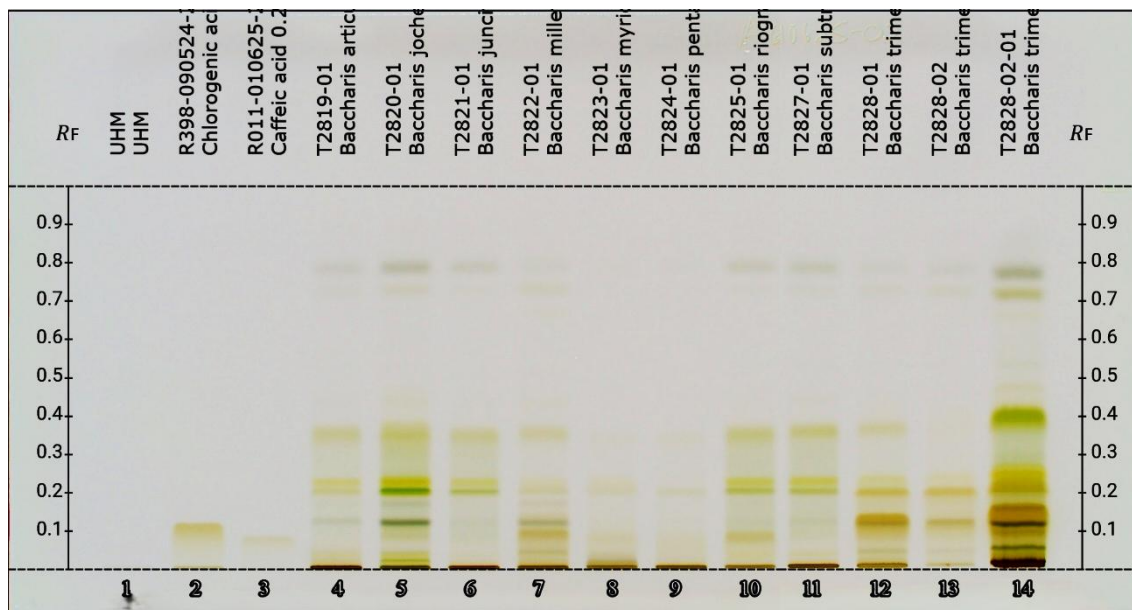
Figura 23 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

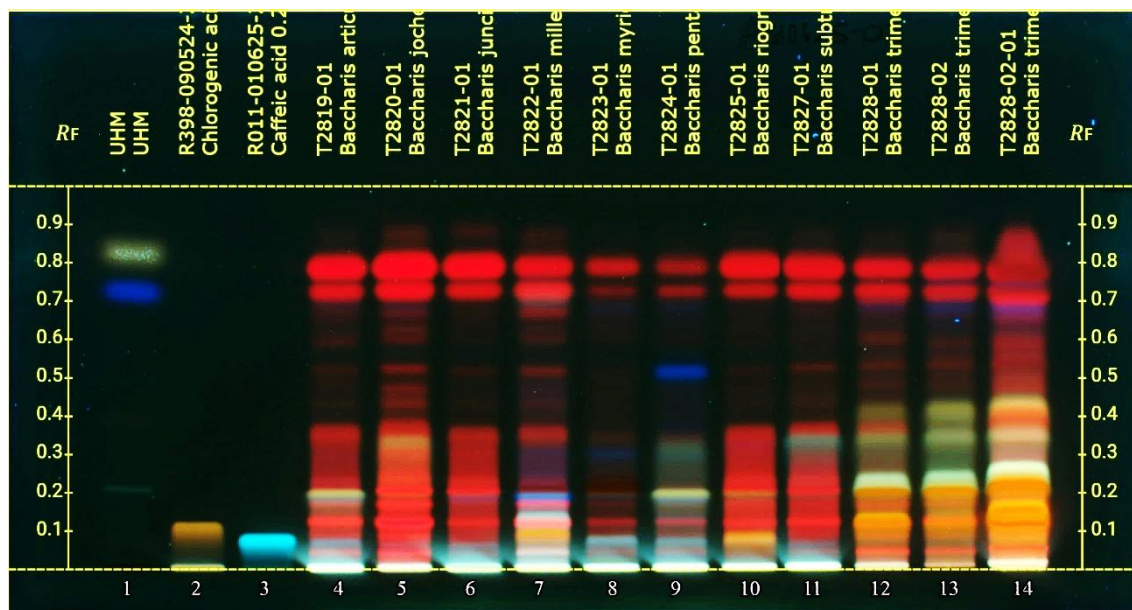
Figura 24 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimer* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimer* (100 mg/ 2mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimer* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

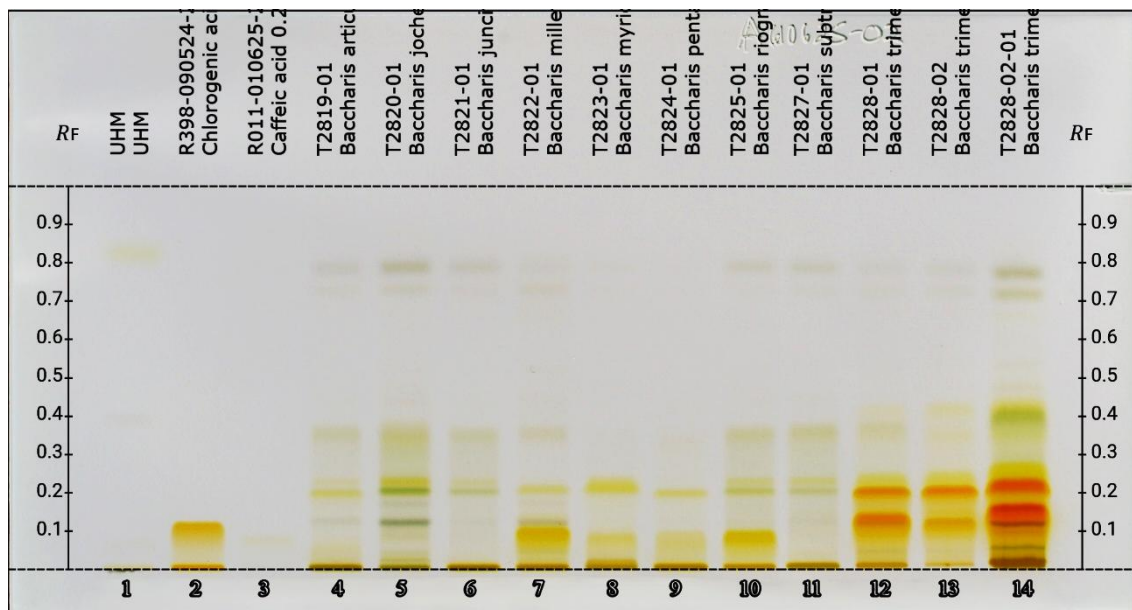
Figura 25 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

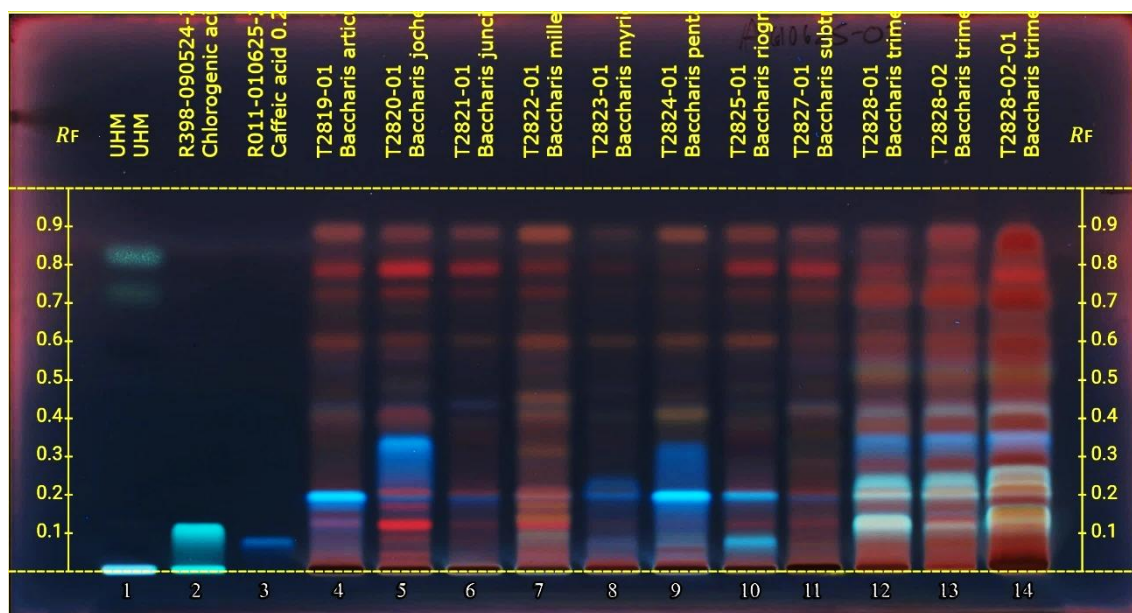
Figura 26 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

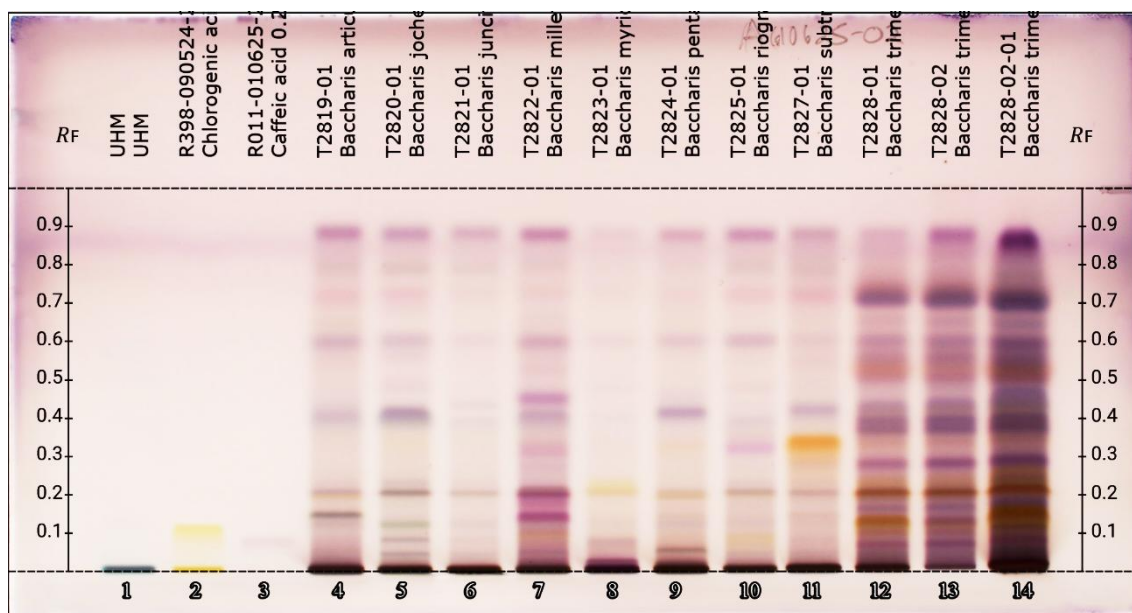
Figura 27 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais p-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ mL metanol) – faixa 14.

Figura 28 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.

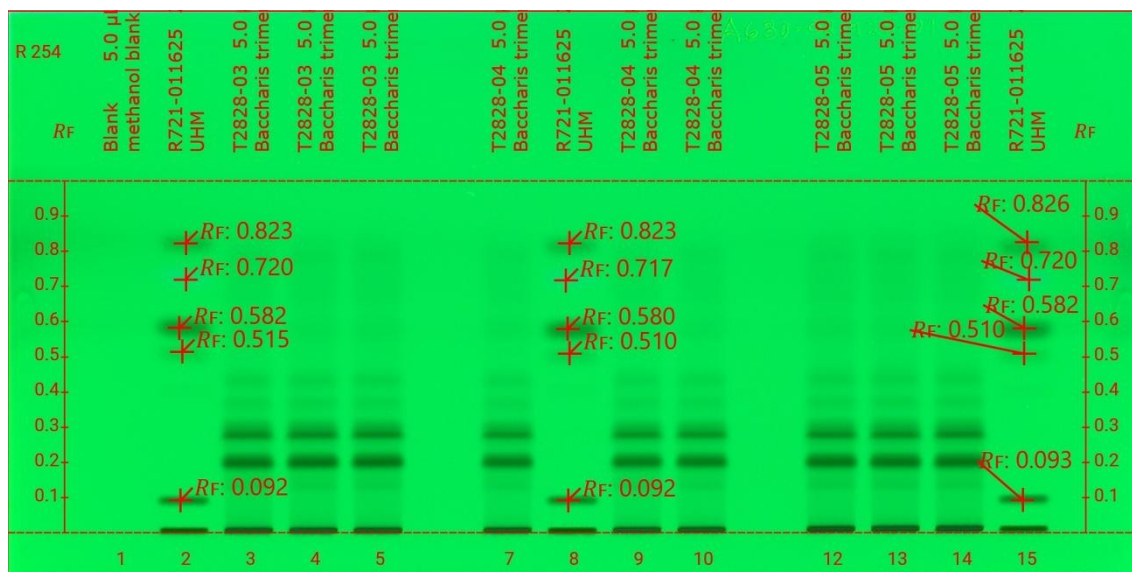


Fonte: O autor.

Notas: UHM – faixa 1; ácido clorogênico – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* (200 mg/2 mL metanol) – faixa 12; *Baccharis trimera* (100 mg/ 2 mL diclorometano) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/mL metanol) – faixa 14.

A definição do método cromatográfico mais adequado para a identificação das espécies de *Baccharis* foi realizada por comparação sucessiva entre diferentes sistemas de revelação e composições de fase móvel, buscando maior resolução cromatográfica e melhor capacidade discriminatória entre as espécies analisadas. Para a validação da metodologia, a precisão foi avaliada através de repetibilidade (intradia) e da precisão intermediária (interdias), com base no padrão de referência UHM (Universal HPTLC Mix) e também da metodologia da Farmacopeia Brasileira, 7ª edição (Brasil, 2024). A Figura 29 mostra a análise intradia de umas das placas cromatográficas.

Figura 29 – Análise do padrão UHM (Universal HPTLC Mix) submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm através do programa *VisionCats* versão 4.2.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2, 8, 15; *Baccharis trimera* – faixa 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 14.

Com os valores de R_f obtidos das cinco bandas observadas das três diferentes posições de aplicação do UHM em triplicata, procedeu-se com a verificação da média e desvio padrão para o cálculo do desvio padrão relativo (%DPR) para cada dia de realização do experimento, como observado na Tabela 4.

Tabela 4 – Avaliação da precisão através da repetibilidade (intradia) das placas cromatográficas com observação dos *R_f* das bandas do UHM.

Dia 1																
Placa 1	Placa 2					Placa 3										
Número da Banda/Faixa	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
2	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823	0,09	0,51	0,59	0,727	0,828	0,09	0,507	0,582	0,727	0,821	
8	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823	0,09	0,518	0,582	0,727	0,83	0,09	0,505	0,577	0,725	0,821	
15	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826	0,092	0,512	0,59	0,72	0,828	0,091	0,502	0,59	0,722	0,816	
Média	0,092	0,5116	0,5813	0,719	0,824	0,0906	0,5133	0,5873	0,7246	0,8286	0,0903	0,5046	0,583	0,7246	0,8193	
DP	0,0005	0,0028	0,0011	0,0017	0,0017	0,0011	0,0041	0,0046	0,0040	0,0011	0,0005	0,0025	0,0065	0,0025	0,0028	
DPR (%)	0,625	0,5641	0,1986	0,2408	0,2102	1,2735	0,8110	0,7864	0,5576	0,1393	0,6391	0,4986	1,1247	0,3472	0,3523	
Dia 2																
Placa 1	Placa 2					Placa 3										
Número da Banda/Faixa	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
2	0,092	0,515	0,585	0,727	0,83	0,092	0,511	0,582	0,721	0,823	0,092	0,51	0,582	0,726	0,824	
8	0,092	0,518	0,583	0,728	0,83	0,092	0,511	0,583	0,726	0,823	0,093	0,518	0,582	0,727	0,828	
15	0,092	0,518	0,583	0,729	0,828	0,093	0,511	0,583	0,728	0,828	0,094	0,516	0,59	0,727	0,833	
Média	0,092	0,517	0,5836	0,728	0,8293	0,0923	0,511	0,5826	0,725	0,8246	0,093	0,5146	0,5846	0,7266	0,8283	
DP	0	0,0017	0,0011	0,001	0,0011	0,0005	0	0,0005	0,0036	0,0028	0,001	0,0041	0,0046	0,0005	0,0045	
DPR (%)	0	0,3350	0,1978	0,1373	0,1392	0,6252	0	0,0990	0,4973	0,3500	1,0752	0,8089	0,7899	0,0794	0,5443	
Dia 3																
Placa 1	Placa 2					Placa 3										
Número da Banda/Faixa	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
2	0,093	0,511	0,585	0,727	0,833	0,093	0,514	0,585	0,728	0,824	0,093	0,514	0,583	0,723	0,83	
8	0,093	0,513	0,584	0,725	0,824	0,092	0,515	0,584	0,723	0,824	0,093	0,513	0,584	0,721	0,825	
15	0,093	0,513	0,585	0,727	0,824	0,093	0,513	0,583	0,722	0,825	0,091	0,512	0,583	0,724	0,823	
Média	0,093	0,5123	0,5846	0,7263	0,827	0,0926	0,514	0,584	0,7243	0,8243	0,0923	0,513	0,5833	0,7226	0,826	
DP	0	0,0011	0,0005	0,0011	0,0051	0,0005	0,001	0,001	0,0032	0,0005	0,0011	0,001	0,0005	0,0015	0,0036	
DPR (%)	0	0,2253	0,0987	0,1589	0,6283	0,623	0,1945	0,1712	0,4437	0,0700	1,2505	0,1949	0,0989	0,2113	0,4365	

Fonte: O autor. Notas: DP: Desvio padrão; DPR (%): Desvio padrão relativo em porcentagem.

Foi possível observar que o desvio padrão relativo foi menor que 2% em todas as bandas, demonstrando a precisão do método na avaliação da repetibilidade entre as placas cromatográficas. Foram realizados os cálculos de média, desvio padrão e porcentagem de desvio padrão relativo considerando as cinco bandas observadas em cada UHM. Como o UHM foi aplicado em três regiões diferentes, totalizaram-se quinze bandas no cálculo final ao longo de três dias, conforme mostra na Tabela 5.

Tabela 5 – Avaliação da precisão através da repetibilidade (intradia) pelo R_f de cada banda do UHM.

Dia 1															
Banda (Posição)/Número da placa	1(1)	2(2)	3(2)	4(2)	5(2)	6(8)	7(8)	8(8)	9(8)	10(8)	11(15)	12(15)	13(15)	14(15)	15(15)
1	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826
2	0,09	0,51	0,59	0,727	0,828	0,09	0,518	0,582	0,727	0,83	0,092	0,512	0,59	0,72	0,828
3	0,09	0,507	0,582	0,727	0,821	0,09	0,505	0,577	0,725	0,821	0,091	0,502	0,59	0,722	0,816
Média	0,0906	0,5106	0,5846	0,7246	0,824	0,0906	0,511	0,5796	0,723	0,8246	0,092	0,508	0,5873	0,7206	0,8233
Desvio padrão (DP)	0,0011	0,0040	0,0046	0,0040	0,0036	0,0011	0,0065	0,0025	0,0052	0,0047	0,001	0,0052	0,0046	0,0011	0,0064
DP relativo (%)	1,2735	0,7914	0,7899	0,5576	0,4375	1,2735	1,2832	0,4341	0,7318	0,5730	1,0869	1,0416	0,7864	0,1602	0,7808
Dia 2															
Banda (Posição)/Número da placa	1(1)	2(2)	3(2)	4(2)	5(2)	6(8)	7(8)	8(8)	9(8)	10(8)	11(15)	12(15)	13(15)	14(15)	15(15)
1	0,092	0,515	0,585	0,727	0,83	0,092	0,518	0,583	0,728	0,83	0,092	0,518	0,583	0,729	0,828
2	0,092	0,511	0,582	0,721	0,823	0,092	0,511	0,583	0,726	0,823	0,093	0,511	0,583	0,728	0,828
3	0,092	0,51	0,582	0,726	0,824	0,093	0,518	0,582	0,727	0,828	0,094	0,516	0,59	0,727	0,833
Média	0,092	0,512	0,583	0,7246	0,8256	0,0923	0,5156	0,5826	0,727	0,827	0,093	0,515	0,5853	0,728	0,8296
Desvio padrão (DP)	0	0,0026	0,0017	0,0032	0,0037	0,0005	0,0040	0,0005	0,001	0,0036	0,001	0,0036	0,0040	0,001	0,0028
DP relativo (%)	0	0,5167	0,2970	0,4435	0,4585	0,6252	0,7837	0,0990	0,1375	0,4359	1,0752	0,7001	0,6904	0,1373	0,3479
Dia 3															
Banda (Posição)/Número da placa	1(1)	2(2)	3(2)	4(2)	5(2)	6(8)	7(8)	8(8)	9(8)	10(8)	11(15)	12(15)	13(15)	14(15)	15(15)
1	0,093	0,511	0,585	0,727	0,833	0,093	0,513	0,584	0,725	0,824	0,093	0,513	0,585	0,727	0,824
2	0,093	0,514	0,585	0,728	0,824	0,092	0,515	0,584	0,723	0,824	0,093	0,513	0,583	0,722	0,825
3	0,093	0,514	0,583	0,723	0,83	0,093	0,513	0,584	0,721	0,825	0,091	0,512	0,583	0,724	0,823
Média	0,093	0,513	0,5843	0,726	0,829	0,0926	0,5136	0,584	0,723	0,8243	0,0923	0,5126	0,5836	0,7243	0,824
Desvio padrão (DP)	0	0,0017	0,0011	0,0026	0,0045	0,0005	0,0011	0	0,002	0,0005	0,0011	0,0005	0,0011	0,0025	0,001
DP relativo (%)	0	0,3376	0,1976	0,3644	0,5527	0,6230	0,2247	0	0,2766	0,0700	1,2505	0,1126	0,1978	0,3474	0,1213

Fonte: O autor.

Foi possível observar que os valores de desvio padrão relativo foram inferiores a 2% em todas as bandas, demonstrando precisão na repetibilidade do método, considerando as bandas evidenciadas no perfil cromatográfico do UHM em diferentes posições de aplicação.

Com os dados obtidos, a análise da precisão intermediária (interdias) dos três dias de avaliação foram feitos, como mostram as Tabelas 6 e 7. Primeiramente foram avaliadas separadamente todas as cinco bandas no decorrer dos três dias e o desvio padrão relativo (Tabela 6), e em seguida, foram avaliadas as médias de cada dia para cada banda observada (Tabela 7), calculando-se o desvio padrão relativo.

Tabela 6 – Avaliação da precisão intermediária (interdias) das placas cromatográficas com avaliação do R_f das bandas do UHM.

Número da Banda/ Dias de análise	1	2	3	4	5
Dia 1	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823
	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823
	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826
	0,09	0,51	0,59	0,727	0,828
	0,09	0,518	0,582	0,727	0,83
	0,092	0,512	0,59	0,72	0,828
	0,09	0,507	0,582	0,727	0,821
	0,09	0,505	0,577	0,725	0,821
	0,091	0,502	0,59	0,722	0,816
Dia 2	0,092	0,515	0,585	0,727	0,83
	0,092	0,518	0,583	0,728	0,83
	0,092	0,518	0,583	0,729	0,828
	0,092	0,511	0,582	0,721	0,823
	0,092	0,511	0,583	0,726	0,823
	0,093	0,511	0,583	0,728	0,828
	0,092	0,51	0,582	0,726	0,824
	0,093	0,518	0,582	0,727	0,828
	0,094	0,516	0,59	0,727	0,833
Dia 3	0,093	0,511	0,585	0,727	0,833
	0,093	0,513	0,584	0,725	0,824
	0,093	0,513	0,585	0,727	0,824
	0,093	0,514	0,585	0,728	0,824
	0,092	0,515	0,584	0,723	0,824
	0,093	0,513	0,583	0,722	0,825
	0,093	0,514	0,583	0,723	0,83
	0,093	0,513	0,584	0,721	0,825
	0,091	0,512	0,583	0,724	0,823
Média	0,092074074	0,512407	0,583852	0,724593	0,825741
Desvio Padrão (DP)	0,001106829	0,003866	0,003085	0,003226	0,003908
DP relativo (%)	1,202107507	0,754404	0,528344	0,445162	0,473332

Fonte: O autor.

Tabela 7 – Avaliação da precisão intermediária (interdias) das placas cromatográficas com base nas médias dos valores de *R_f* das bandas do UHM em diferentes dias.

Número da Banda/ Média dos dias de análise	1	2	3	4	5
Dia 1 (média)	0,092333333	0,5116667	0,581333333	0,719	0,824
	0,090666667	0,5133333	0,587333333	0,724666667	0,828666667
	0,090333333	0,5046667	0,583	0,724666667	0,819333333
Dia 2 (média)	0,092	0,517	0,583666667	0,728	0,829333333
	0,092333333	0,5156667	0,582666667	0,727	0,827
	0,093	0,5146667	0,584666667	0,726666667	0,828333333
Dia 3 (média)	0,093	0,5123333	0,584666667	0,726333333	0,827
	0,092666667	0,514	0,584	0,724333333	0,824333333
	0,092333333	0,513	0,583333333	0,722666667	0,826
Média	0,092074074	0,5129259	0,583851852	0,724814815	0,826
Desvio Padrão (DP)	0,000954198	0,003511	0,001667592	0,002723922	0,003100179
DP relativo (%)	1,036337331	0,6845054	0,285619088	0,375809423	0,375324359

Fonte: O autor.

Entre as duas metodologias examinadas, foi possível a observação de desvio padrão relativo abaixo de 2% em todas as bandas, demonstrando que houve precisão intermediária do método.

Para a robustez, pequenas variações no procedimento experimental inicial foram realizadas, como alterações na composição da fase móvel. Dados obtidos do intradia foram utilizados como padrão, já que a fase móvel era de acetato de etila: tolueno: ácido fórmico (30:70:1 v/v). A Tabela 8 mostra essas variações com o cálculo do desvio padrão relativo.

Tabela 8 – Avaliação da robustez através da mudança de concentração da fase móvel com observação do *R_f* das bandas do UHM nas placas cromatográficas.

25:70:1 v/v						35:70:1 v/v						30:75:1 v/v						15:35:1 v/v					
N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5	N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5	N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5	N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5
2	0,08	0,47	0,56	0,72	0,81	2	0,10	0,53	0,60	0,73	0,82	2	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	2	0,11	0,50	0,57	0,70	0,8
8	0,08	0,47	0,55	0,72	0,81	8	0,10	0,53	0,61	0,74	0,82	8	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	8	0,11	0,50	0,57	0,71	0,8
15	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	15	0,10	0,53	0,60	0,74	0,82	15	0,08	0,47	0,56	0,72	0,81	15	0,11	0,50	0,57	0,71	0,8
Média	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	Média	0,10	0,53	0,60	0,74	0,82	Média	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	Média	0,11	0,50	0,57	0,71	0,8
DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
DPR (%)	0,71	0,12	0,17	0,24	0,18	DPR (%)	1,12	0,10	0,09	0,20	0,13	DPR (%)	0,71	0,12	0,20	0,21	0,12	DPR (%)	1,83	0,19	0,36	0,35	0,1
N.º da Banda/Pla ca(faixa)	1	2	3	4	5	N.º da Banda/Pla ca(faixa)	1	2	3	4	5	N.º da Banda/Pla ca(faixa)	1	2	3	4	5	N.º da Banda/Pla ca(faixa)	1	2	3	4	5
Intradia (2)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (2)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (2)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (2)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,8
25:70:1 (2)	0,08	0,47	0,56	0,72	0,81	35:70:1 (2)	0,10	0,53	0,60	0,73	0,82	30:75:1 (2)	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	15:35:1 (2)	0,11	0,50	0,57	0,70	0,8
Intradia (8)	0,09	0,51	0,58	0,71	0,82	Intradia (8)	0,09	0,51	0,58	0,71	0,82	Intradia (8)	0,09	0,51	0,58	0,71	0,82	Intradia (8)	0,09	0,51	0,58	0,71	0,8
25:70:1 (8)	0,08	0,47	0,55	0,72	0,81	35:70:1 (8)	0,10	0,53	0,61	0,74	0,82	30:75:1 (8)	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	15:35:1 (8)	0,11	0,50	0,57	0,71	0,8
Intradia (15)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (15)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (15)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,82	Intradia (15)	0,09	0,51	0,58	0,72	0,8
25:70:1 (15)	0,08	0,47	0,56	0,71	0,81	35:70:1 (15)	0,10	0,53	0,60	0,74	0,82	30:75:1 (15)	0,08	0,47	0,56	0,72	0,81	15:35:1 (15)	0,11	0,50	0,57	0,71	0,8
Média	0,08	0,49	0,57	0,71	0,81	Média	0,09	0,52	0,59	0,72	0,82	Média	0,08	0,49	0,57	0,71	0,81	Média	0,10	0,50	0,57	0,71	0,8
DP	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	DP	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	DP	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	DP	0,01	0,00	0,00	0,00	0,0
DPR (%)	7,63	3,82	2,05	0,21	0,73	DPR (%)	5,86	2,13	2,57	1,61	0,27	DPR (%)	7,63	3,70	1,89	0,20	0,81	DPR (%)	11,2	1,11	0,45	0,71	1,1

Fonte: O autor.

Notas: DP: Desvio padrão; DPR (%): Desvio padrão relativo em porcentagem.

Observou-se maior variabilidade nas bandas de menor R_f , especialmente nas regiões próximas à linha de aplicação, o que é esperado devido à menor resolução cromatográfica nessas condições. Essa maior variabilidade pode ser atribuída à maior sensibilidade dessas regiões a pequenas variações experimentais, como aplicação da amostra e interação com a fase estacionária, sendo considerada compatível com a técnica empregada (De Zeeuw; Franke; Maurer, 1992; Sherma; Fried, 2003). Ainda assim, os principais picos mantiveram comportamento consistente, sem comprometimento do perfil cromatográfico, dessa forma, demonstrando que o método se mantém robusto mesmo diante de variações nas concentrações da fase móvel.

A temperatura da placa cromatográfica foi outro fator avaliado para avaliar a robustez do método. Foi realizado o aquecimento das placas, em um tempo fixo de 3 minutos, variando a temperatura de $\pm 5^\circ\text{C}$. Dados obtidos do intradia foram utilizados como padrão, já que a temperatura ideal observada era de 100°C . A Tabela 9 mostra essas variações com o cálculo do desvio padrão relativo.

Tabela 9 – Avaliação da robustez através da mudança de temperatura da placa cromatográfica com observação do *R_f* das bandas do UHM.

95°C						105°C					
N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5	N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5
2	0,092	0,511	0,582	0,72	0,823	2	0,093	0,51	0,582	0,722	0,821
8	0,091	0,511	0,583	0,721	0,822	8	0,094	0,51	0,581	0,723	0,823
15	0,091	0,511	0,584	0,721	0,822	15	0,094	0,512	0,581	0,723	0,821
Média	0,091333	0,511	0,583	0,720667	0,822333	Média	0,093667	0,510667	0,5813333	0,7226667	0,8216667
Desvio Padrão (DP)	0,000577	0	0,001	0,000577	0,000577	Desvio Padrão (DP)	0,000577	0,001155	0,0005774	0,0005774	0,0011547
DP Relativo (%)	0,632135	0	0,171527	0,080113	0,070209	DP relativo (%)	0,616388	0,226116	0,0993148	0,0798916	0,1405315
N.º da Banda/Placa (faixa)	1	2	3	4	5	N.º da Banda/Placa (faixa)	1	2	3	4	5
Intradia (2)	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823	Intradia (2)	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823
95°C (2)	0,092	0,511	0,582	0,72	0,823	105°C (2)	0,093	0,51	0,582	0,722	0,821
Intradia (8)	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823	Intradia (8)	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823
95°C (8)	0,091	0,511	0,583	0,721	0,822	105°C (8)	0,094	0,51	0,581	0,723	0,823
Intradia (15)	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826	Intradia (15)	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826
95°C (15)	0,091	0,511	0,584	0,721	0,822	105°C (15)	0,094	0,512	0,581	0,723	0,821
Média	0,091833	0,511333	0,582167	0,719833	0,823167	Média	0,093	0,511167	0,5813333	0,7208333	0,8228333
Desvio Padrão (DP)	0,000753	0,001862	0,001329	0,001472	0,001472	Desvio Padrão (DP)	0,000894	0,002041	0,0008165	0,0023166	0,0018348
DP Relativo (%)	0,81972	0,36413	0,22831	0,20449	0,17882	DP Relativo (%)	0,96175	0,39933	0,140452	0,321379	0,222991

Fonte: O autor.

Foi possível observar o desvio padrão relativo foi abaixo de 2% em todas as bandas, demonstrando que houve robustez na metodologia da variação de temperatura, considerando as bandas evidenciadas no perfil cromatográfico do UHM em diferentes posições de aplicação.

A variação de tempo de aquecimento da placa cromatográfica foi outro fator avaliado para robustez do método. Foi realizado o aquecimento das placas, em um tempo fixo de 2 minutos e outro de 4 minutos, mantendo-se a temperatura de 100°C. Dados obtidos do intradia foram utilizados como padrão, já que o tempo fixo ideal observado era de 3 minutos. A Tabela 10 mostra essas variações com o cálculo do desvio padrão relativo.

Tabela 10 – Avaliação da robustez através da mudança de tempo de aquecimento da placa cromatográfica com observação do *R_f* das bandas do UHM.

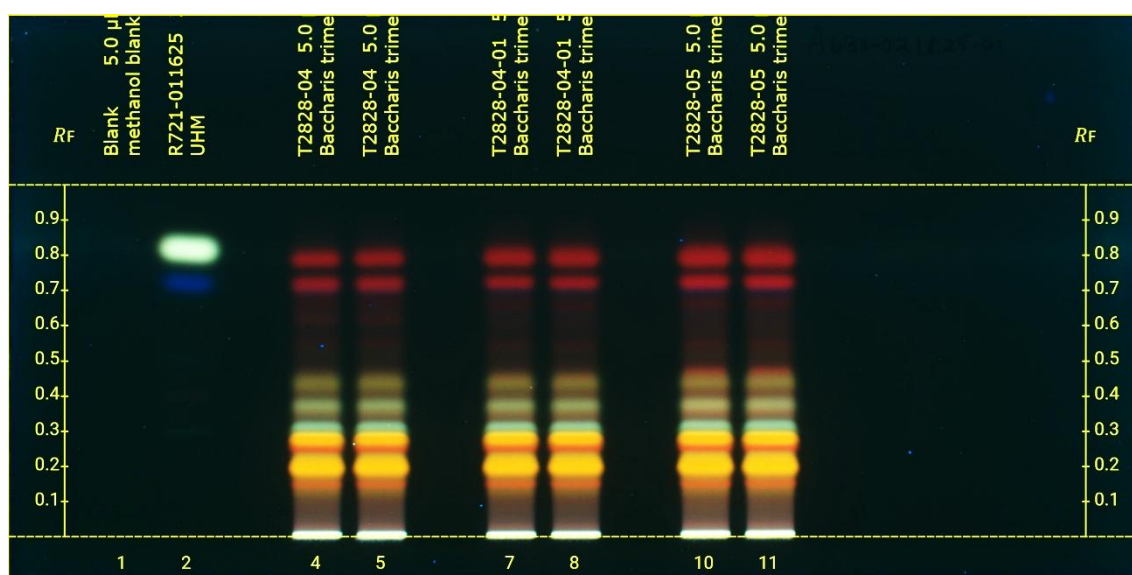
2 Minutos						4 Minutos					
N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5	N.º da Banda/ Faixa	1	2	3	4	5
2	0,095	0,514	0,587	0,728	0,828	2	0,095	0,512	0,584	0,727	0,823
8	0,095	0,514	0,588	0,728	0,827	8	0,093	0,514	0,585	0,728	0,823
15	0,096	0,515	0,586	0,727	0,825	15	0,095	0,513	0,583	0,726	0,823
Média	0,09533333	0,514333	0,587	0,727667	0,826667	Média	0,094333	0,513	0,584	0,727	0,823
Desvio Padrão (DP)	0,00057735	0,000577	0,001	0,000577	0,001528	Desvio Padrão (DP)	0,001155	0,001	0,001	0,001	0
DP relativo (%)	0,60561217	0,112252	0,170358	0,079343	0,184781	DP relativo (%)	1,224064	0,194932	0,171233	0,137552	0
N.º da Banda/Placa (faixa)	1	2	3	4	5	N.º da Banda/Placa (faixa)	1	2	3	4	5
Intradia (2)	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823	Intradia (2)	0,092	0,515	0,582	0,72	0,823
2 minutos (2)	0,095	0,514	0,587	0,728	0,828	4 minutos (2)	0,095	0,512	0,584	0,727	0,823
Intradia (8)	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823	Intradia (8)	0,092	0,51	0,58	0,717	0,823
2 minutos (8)	0,095	0,514	0,588	0,728	0,827	4 minutos (8)	0,093	0,514	0,585	0,728	0,823
Intradia (15)	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826	Intradia (15)	0,093	0,51	0,582	0,72	0,826
2 minutos (15)	0,096	0,515	0,586	0,727	0,825	4 minutos (15)	0,095	0,513	0,583	0,726	0,823
Média	0,09383333	0,513	0,584167	0,723333	0,825333	Média	0,093333	0,512333	0,582667	0,723	0,8235
Desvio Padrão (DP)	0,0017224	0,002366	0,003251	0,004885	0,002066	Desvio Padrão (DP)	0,001366	0,002066	0,001751	0,004561	0,001225
DP relativo (%)	1,8355965	0,46129	0,55646	0,67539	0,25027	DP relativo (%)	1,46385	0,40317	0,30055	0,6308	0,14872

Fonte: O autor.

Com a variação de tempo de aquecimento da placa cromatográfica, foi possível avaliar que houve robustez na metodologia, pois todas as bandas de UHM em diferentes posições de aplicação obtiveram desvio padrão relativo abaixo de 2%.

Para a avaliação da estabilidade do método, foi investigado diferentes condições de preparo da amostra. Utilizou-se o extrato de *B. trimera* em duplicata, sendo recém-preparado, aplicado na placa cromatográfica por um período de 3 horas e aplicado na placa cromatográfica em solução por 3 horas, como mostra a Figura 30.

Figura 30 - Amostras de *Baccharis trimera* e o padrão UHM submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.

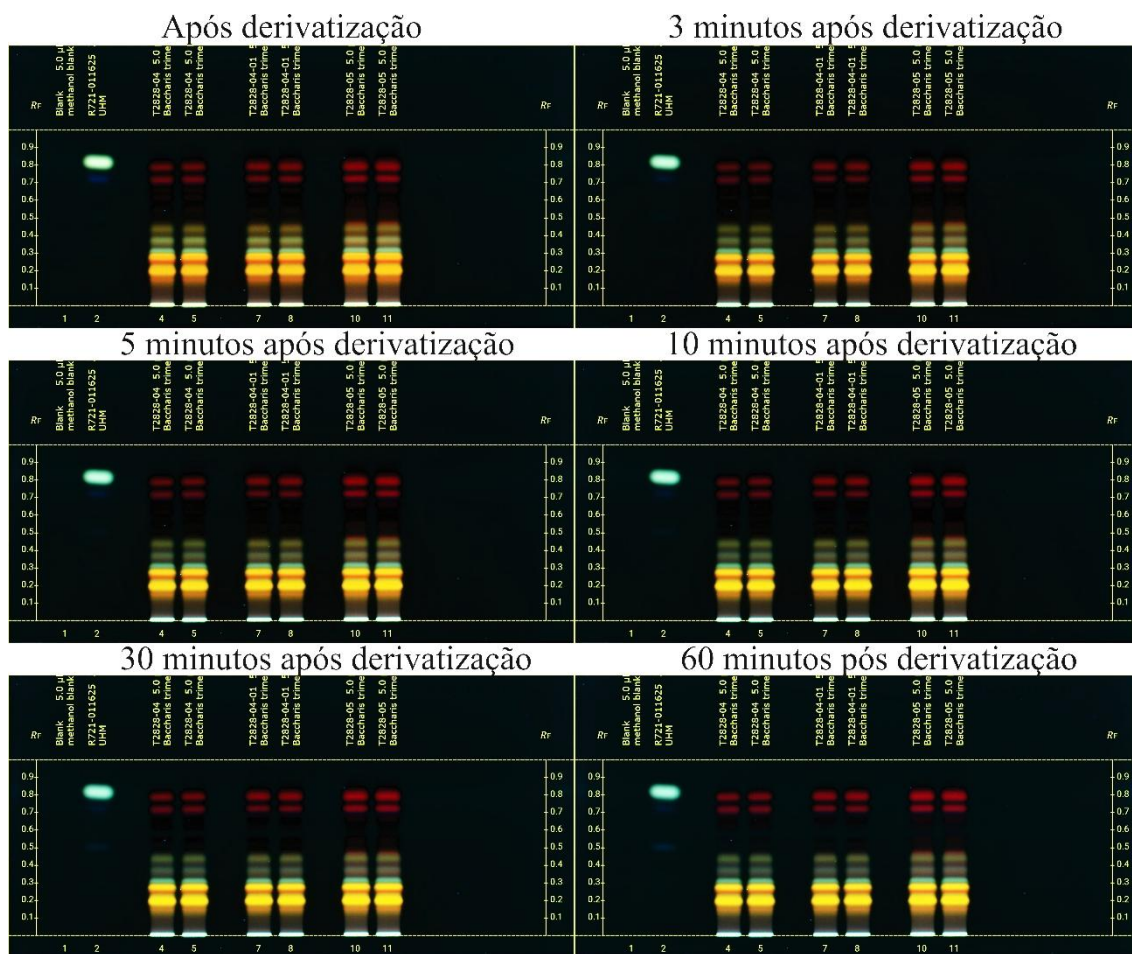


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; extrato de *Baccharis trimera* aplicadas na placa cromatográfica por um período de 3 horas – faixas 4, 5; *Baccharis trimera* aplicadas na placa cromatográfica em solução por 3 horas – faixas 7, 8; *Baccharis trimera* recém-preparadas – faixas 10, 11.

A comparação dos perfis cromatográficos obtidos em diferentes condições evidenciou a presença de bandas com valores de R_f consistentes, mesmo com as variações intencionais, especialmente nas regiões de aproximadamente R_f 0,19, 0,27, 0,30 e 0,72, indicando estabilidade dos compostos majoritários, demonstrando, assim, estabilidade dos ativos frente a variações na metodologia empregada. Concomitantemente, outra verificação estava sendo feita, ao qual avaliou a estabilidade da reação entre o reagente Natural product® e as bandas após a derivatização, em diferentes intervalos de tempo: no momento da derivatização e após 3, 5, 10, 30 e 60 minutos. A Figura 31 apresenta essas informações.

Figura 31 - Amostras de *Baccharis trimera* e o padrão UHM submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais p-anisaldeído.



Fonte: O autor.

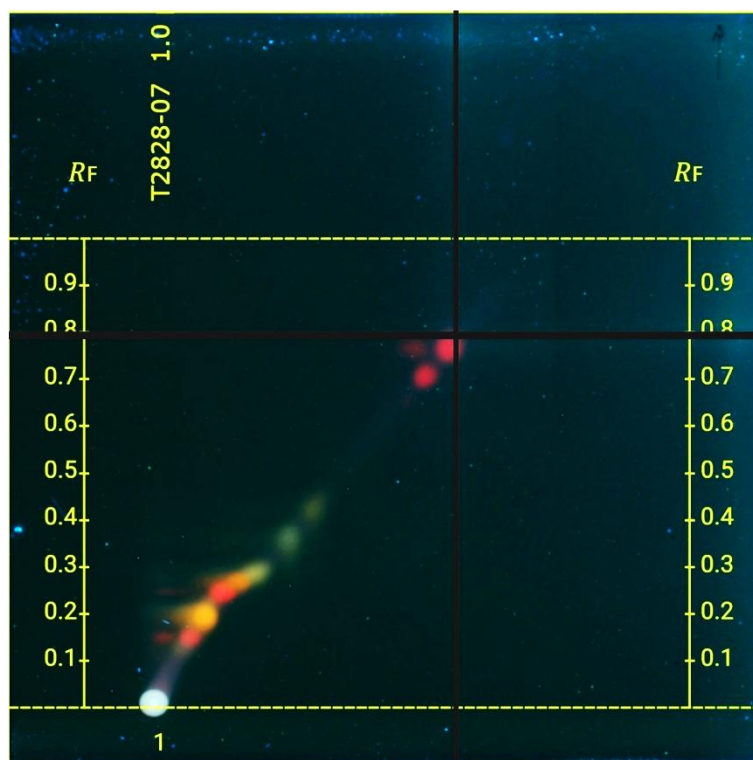
Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; *Baccharis trimera* aplicadas na placa cromatográfica por um período de 3 horas – faixas 4, 5; *Baccharis trimera* aplicada na placa cromatográfica em solução por 3 horas – faixas 7, 8; *Baccharis trimera* recém-preparada – faixas 10, 11.

A comparação dos perfis cromatográficos das amostras após permanência na placa por 3 horas (faixas 4 e 5), em solução por três horas (faixas 7 e 8) e recém-preparadas (faixas 10 e 11), demonstraram elevada similaridade, com manutenção das principais bandas ao longo das diferentes condições avaliadas. Bandas com valores de R_f aproximadamente em 0,19, 0,27, 0,30, 0,36, 0,43, 0,72 e 0,78 foram consistentemente observadas, indicando a estabilidade das principais bandas do perfil cromatográfico da amostra. Pequenas variações foram observadas em bandas de menor intensidade, especialmente na região de $R_f \sim 0,54$, sugerindo possível instabilidade de compostos minoritários ou variações relacionadas à preparação e aplicação da amostra. Ainda assim, tais alterações não comprometem o perfil cromatográfico.

Esses resultados indicam que a amostra apresenta boa estabilidade química tanto em solução quanto após aplicação na placa cromatográfica, mantendo seu perfil característico ao longo das condições analisadas.

Por fim, foi avaliada a estabilidade quando a amostra está performando a cromatografia. A amostra foi aplicada apenas uma vez em uma placa 10 x 10 no lado esquerdo da placa, como mostrado na Figura 32.

Figura 32 - Amostra de *Baccharis trimera* e o padrão UHM submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais p-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Nota: *Baccharis trimera* - faixa 1.

O perfil cromatográfico do extrato de *B. trimera* revelou um perfil cromatográfico caracterizado pela distribuição dos metabólitos secundários ao longo da placa, com formação de uma trajetória diagonal de migração. Esse comportamento foi observado mesmo na região de interseção do sistema cromatográfico, indicando a manutenção do perfil cromatográfico da amostra. A presença dessa distribuição contínua sugere estabilidade dos constituintes do extrato, uma vez que não foram observadas alterações significativas no perfil cromatográfico, como aparecimento de novas bandas.

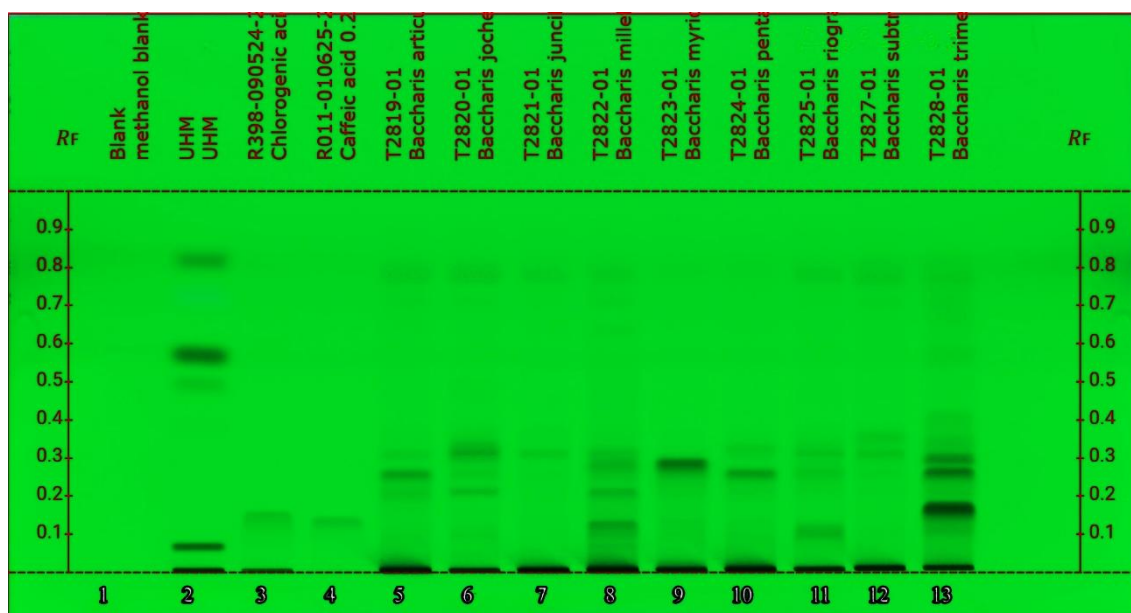
No entanto, foi observada uma leve descontinuidade na trajetória diagonal, especialmente na região correspondente à transição da fase móvel, composta por acetato de etila:tolueno:ácido fórmico (30:70:0,5 v/v). Esse comportamento pode ser atribuído a pequenas variações locais na composição e na força eluente do sistema, possivelmente influenciadas pela presença de ácido fórmico, que altera as interações entre os analitos e a fase estacionária.

Dessa forma, embora o perfil cromatográfico não apresente linearidade perfeita na migração dos compostos, os resultados indicam que o extrato se mantém estável nas condições avaliadas, sendo as variações observadas atribuídas ao sistema cromatográfico e não à degradação da amostra.

A avaliação dos parâmetros de validação demonstrou a adequação da metodologia proposta para aplicação em ensaios subsequentes. Metodologias empregando parâmetros semelhantes para o controle da qualidade de drogas vegetais já foram descritas na literatura (Do *et al.*, 2021; Koll *et al.*, 2003; Reich; Schibli, 2007).

A primeira etapa de otimização da fase móvel, utilizando acetato de etila:tolueno:ácido fórmico (30:70:0,5 v/v), resultou em separação mais eficiente das bandas e maior diferenciação entre os perfis químicos das espécies (Figuras 33–39). Nessa condição, *B. trimera* passou a apresentar padrão cromatográfico mais distinto em relação às demais espécies, indicando que pequenas modificações na acidez do sistema influenciam diretamente a seletividade cromatográfica. Ainda assim, os padrões de referência continuaram com definição limitada, o que indicava que o sistema ainda não havia atingido a condição ótima.

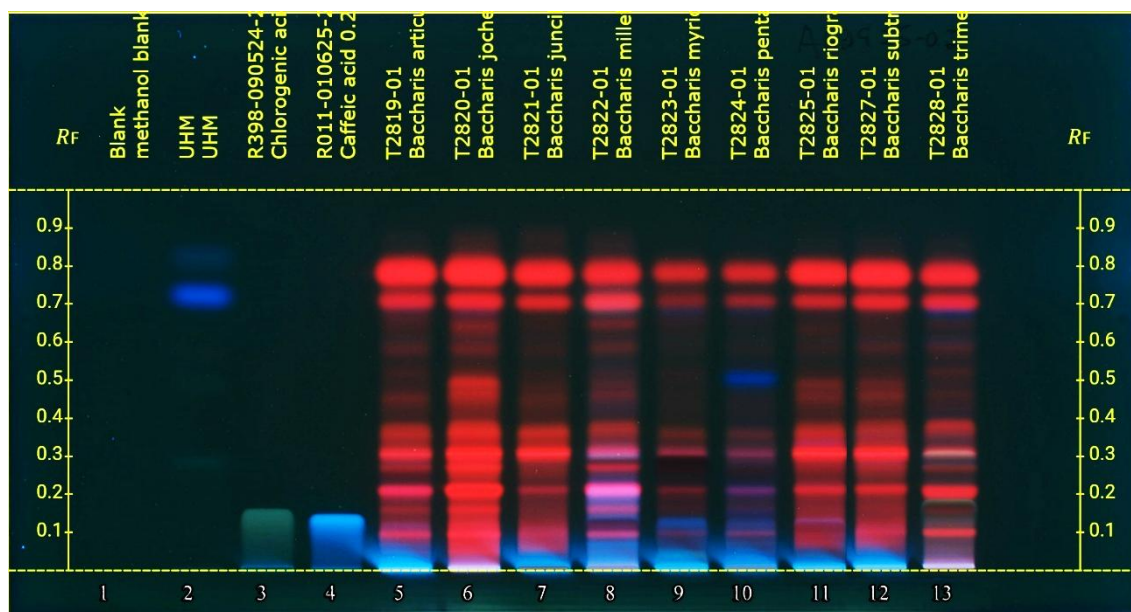
Figura 33 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 34 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.

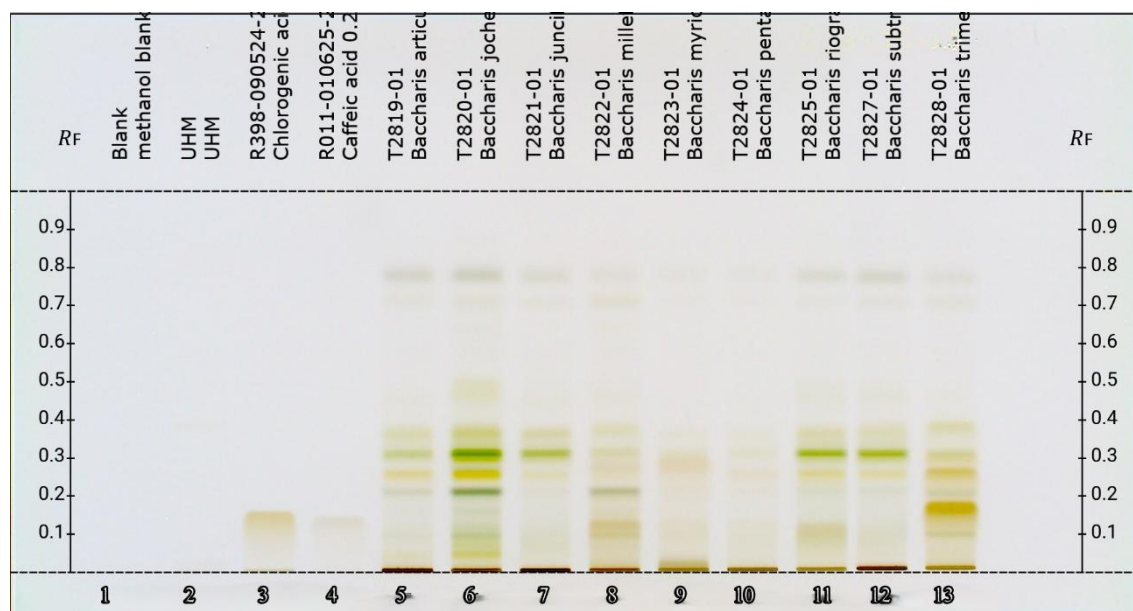


Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8;

Baccharis myriocephala – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

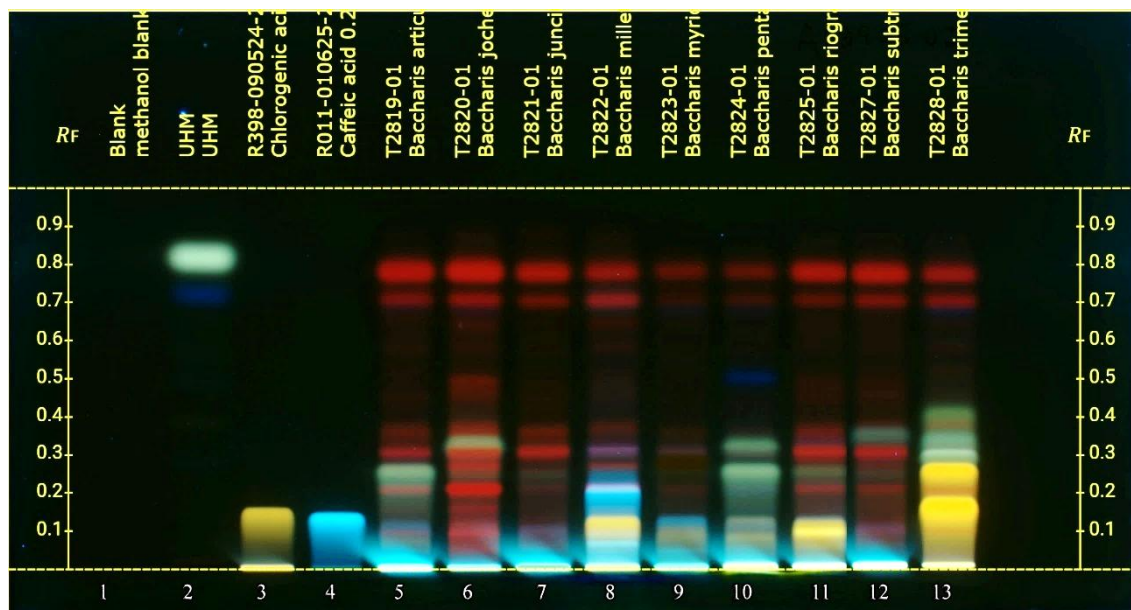
Figura 35 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4; *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

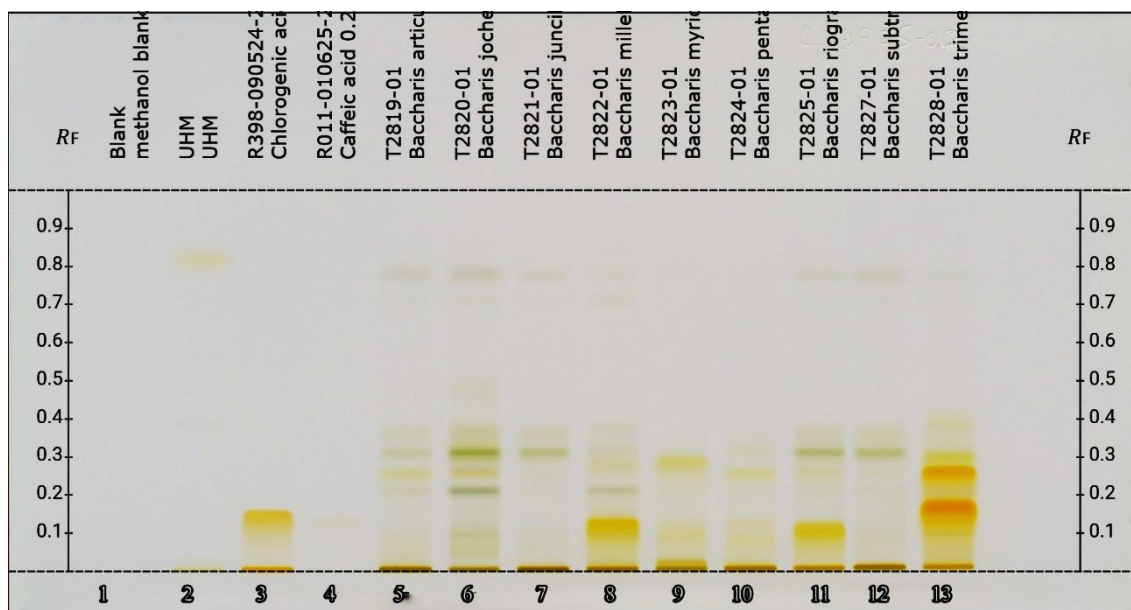
Figura 36 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 37 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product®.

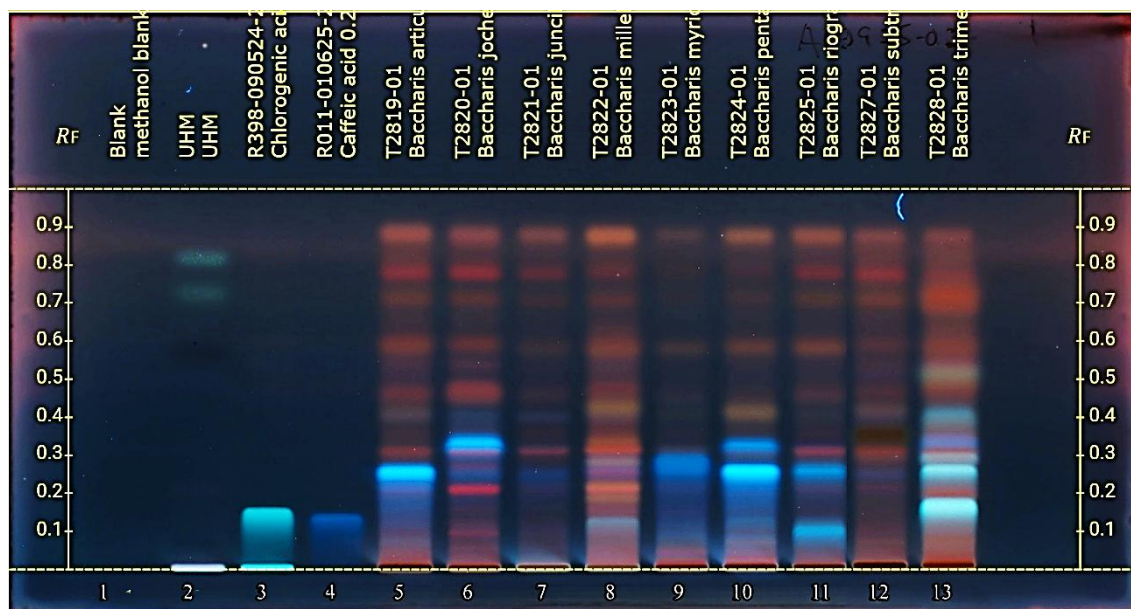


Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8;

Baccharis myriocephala – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

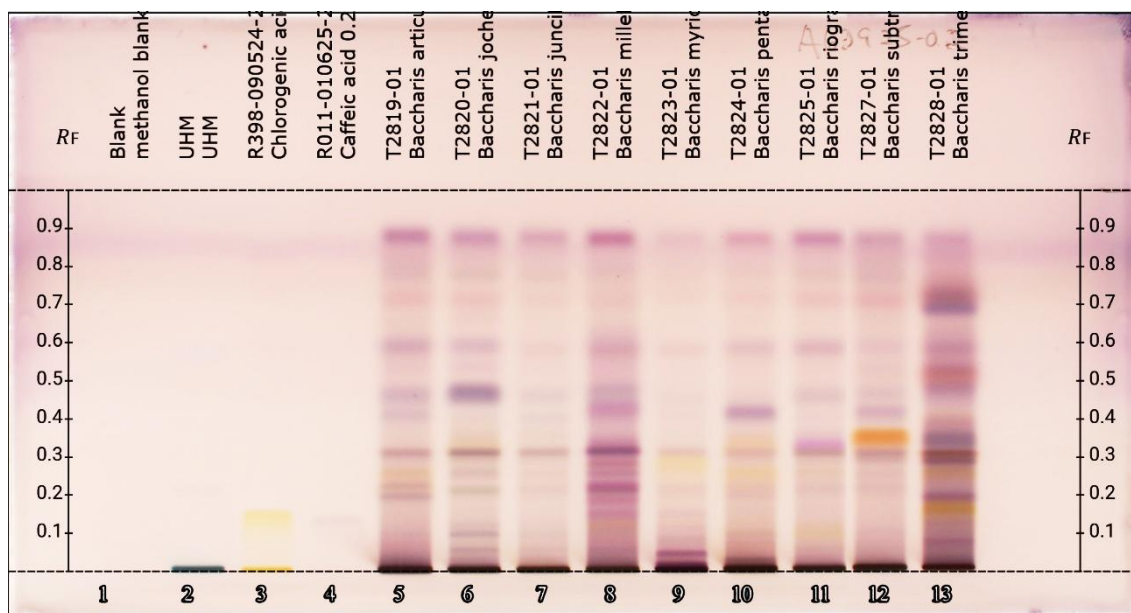
Figura 38 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 39 – Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.

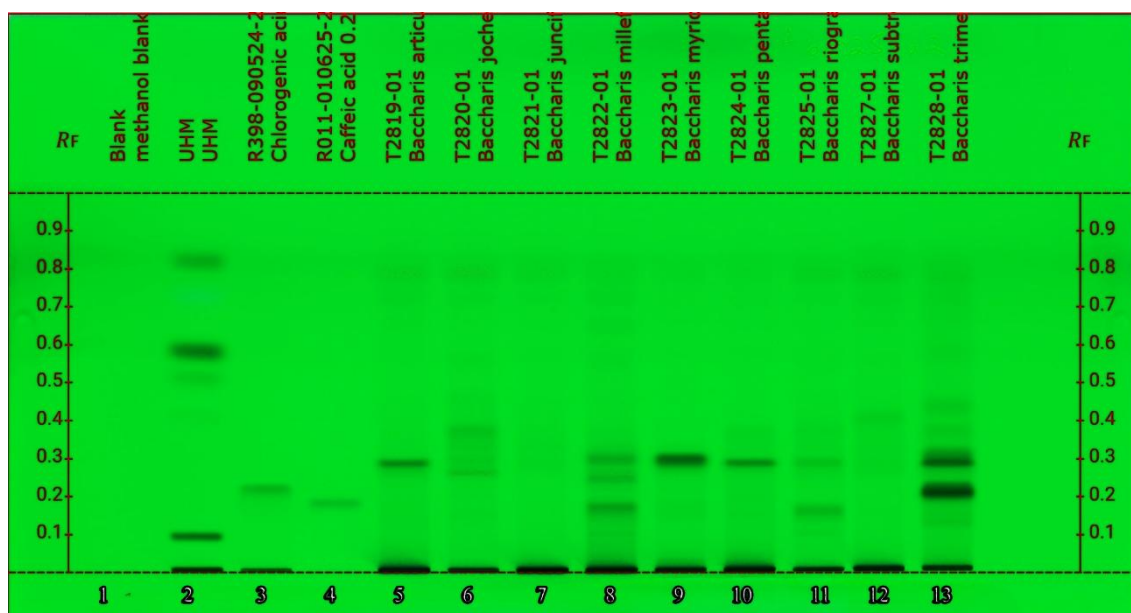


Fonte: O autor.

Notas: Branco – faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Nas Figuras 40–46, correspondentes à etapa seguinte de avaliação cromatográfica, observou-se novamente a possibilidade de distinguir *B. trimera* das demais espécies, especialmente após derivatização e leitura sob UV 366 nm. A manutenção desse comportamento em uma nova condição experimental reforça que a espécie possui perfil flavonoídico próprio e relativamente estável. Esse dado é relevante, porque demonstra que a diferenciação de *B. trimera* não decorre de um artefato isolado de uma única condição analítica, mas de um padrão químico reprodutível. Por outro lado, a persistência de baixa nitidez em algumas bandas de referência mostrou que o sistema ainda exigia refinamento adicional.

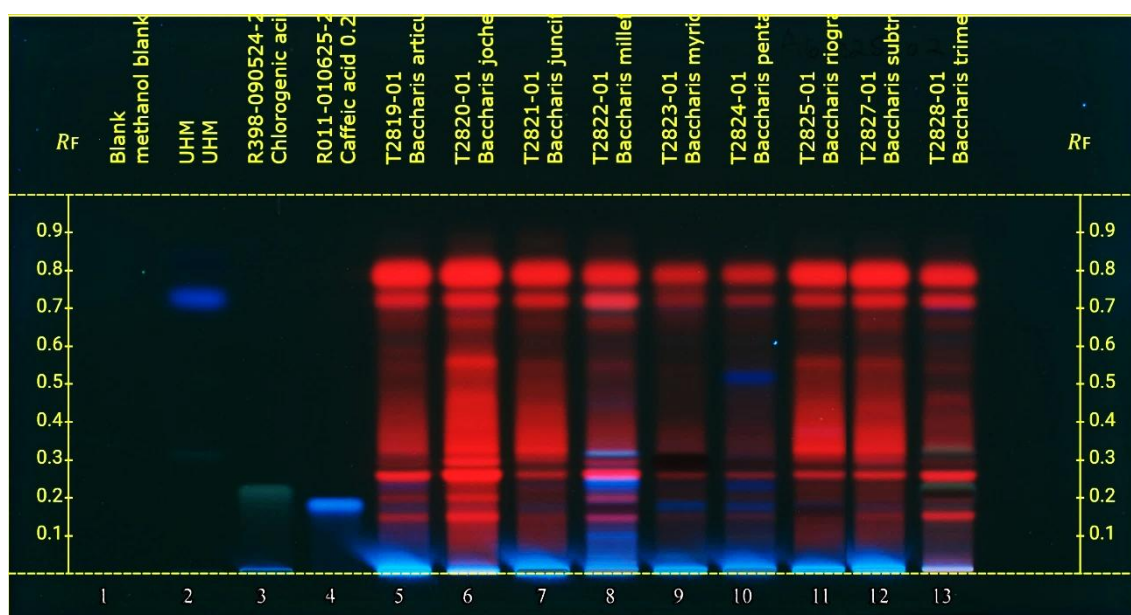
Figura 40 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 41 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.

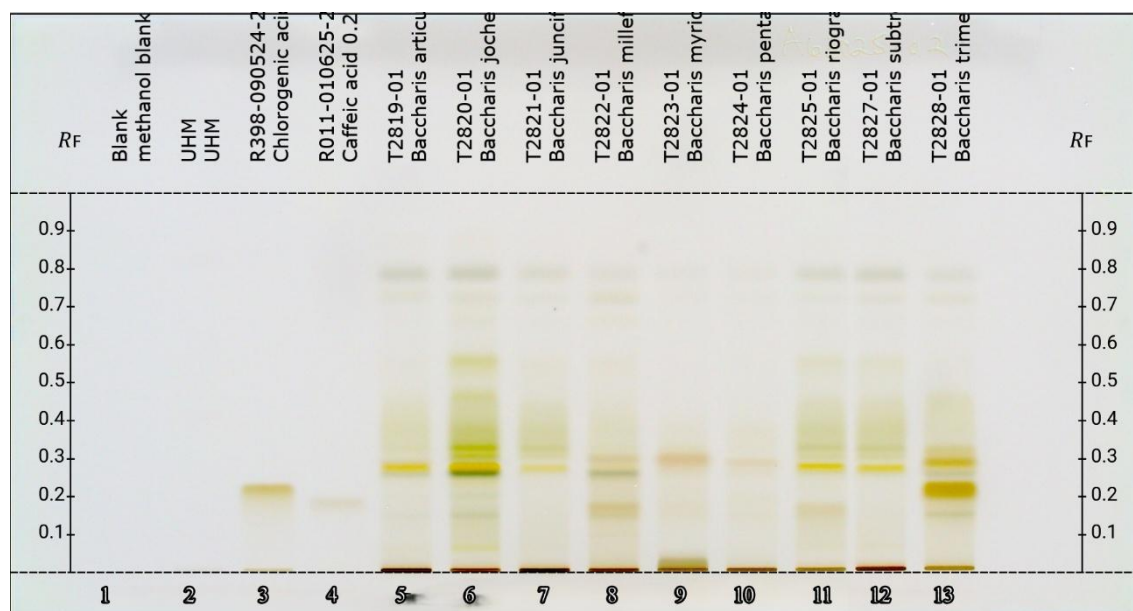


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8;

Baccharis myriocephala – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

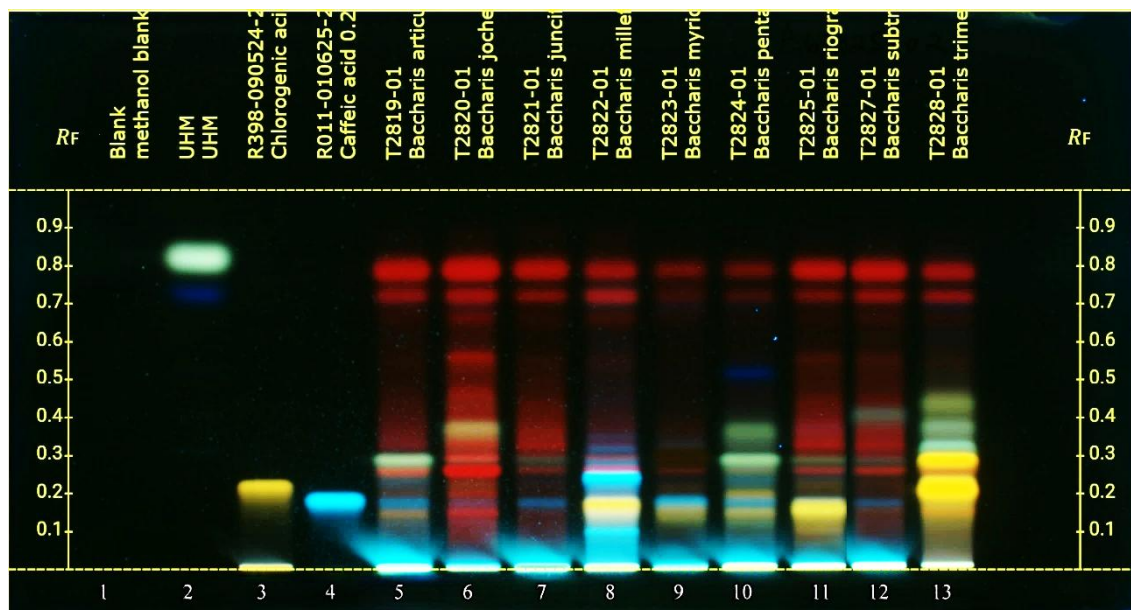
Figura 42 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

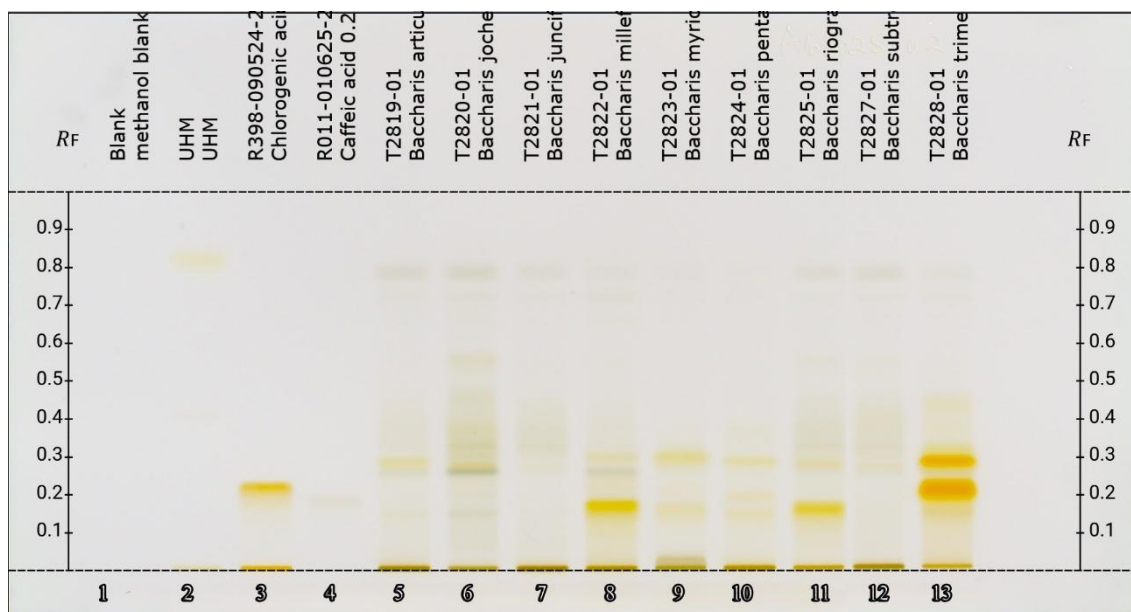
Figura 43 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; ácido clorogênico - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* - faixa 13.

Figura 44 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product®.

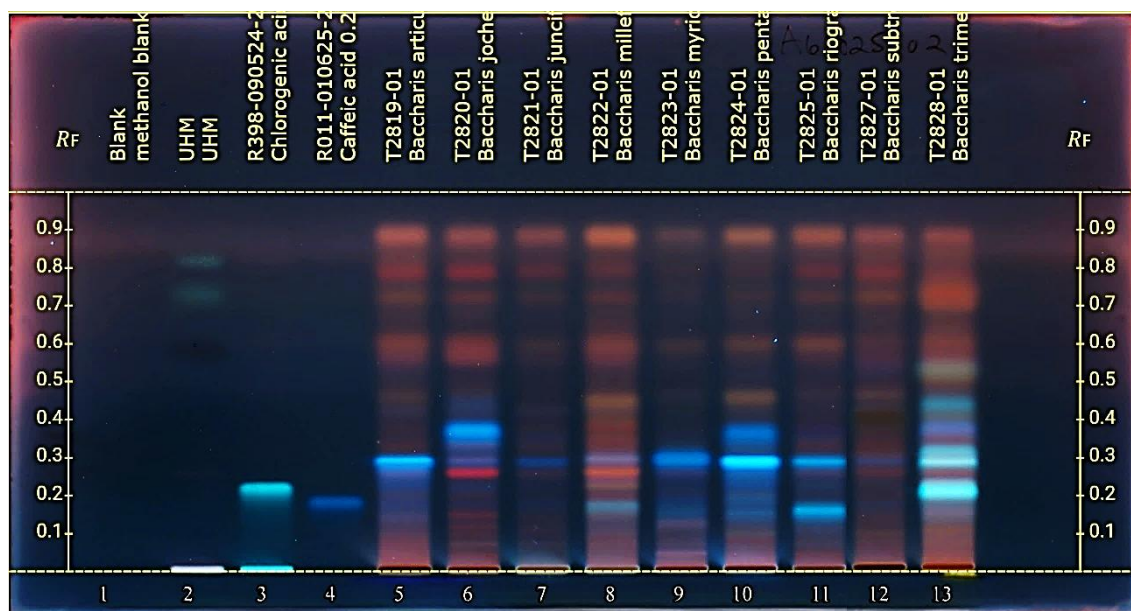


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; ácido clorogênico - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8;

Baccharis myriocephala – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

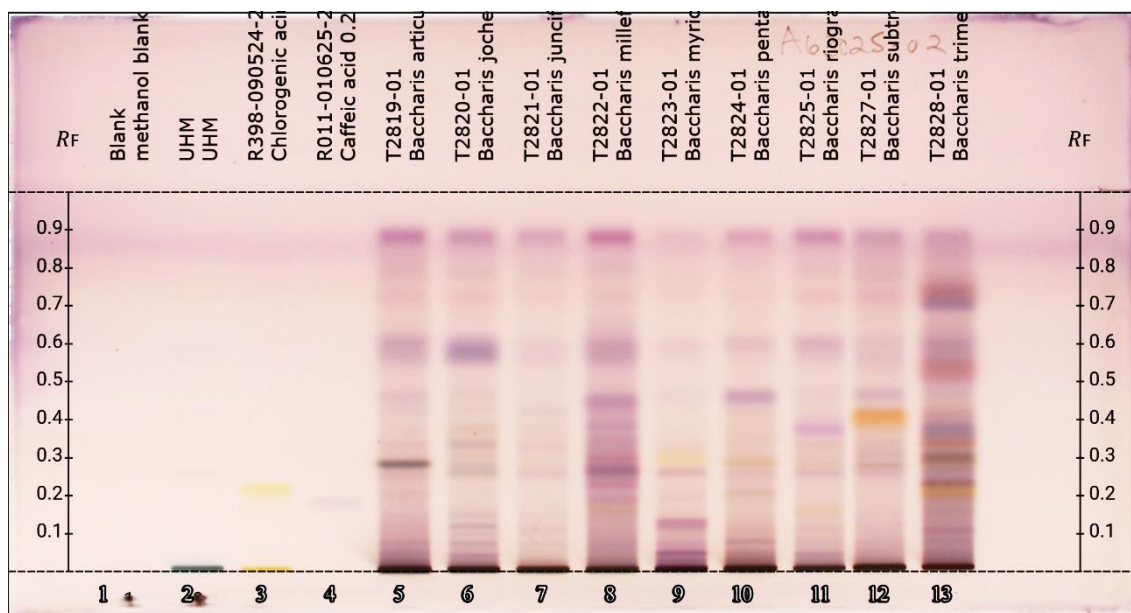
Figura 45 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

Figura 46 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product® mais *p*-anisaldeído.



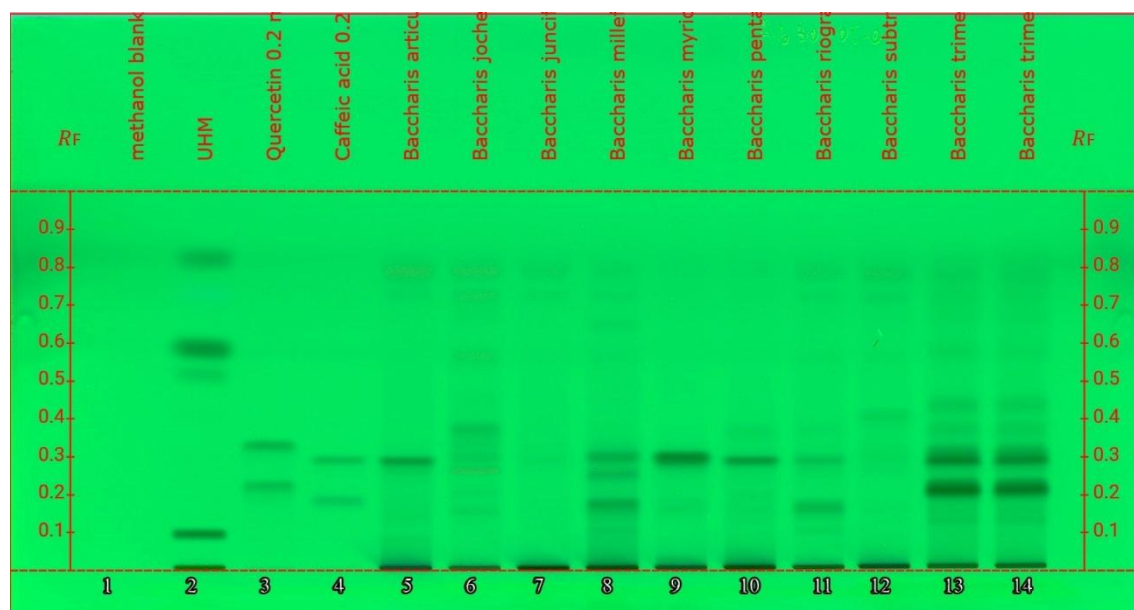
Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; ácido clorogênico – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* – faixa 13.

A condição cromatográfica que apresentou melhor desempenho foi obtida com o ajuste da fase móvel para acetato de etila: tolueno: ácido fórmico (30:70:1 v/v), conforme mostrado nas Figuras 47–53. Nessa condição, houve melhora visível da resolução e da separação das bandas, com maior clareza na distinção entre *B. trimera* e as demais espécies. Sob UV 366 nm, após derivatização, *B. trimera* apresentou duas bandas amareladas entre *R_f* 0,2 e 0,3, atribuídas à quercetina e possivelmente à metoxiquercetina, além de bandas esverdeadas entre *R_f* 0,3 e 0,5. Esse conjunto de sinais configurou um perfil cromatográfico singular quando comparado aos demais táxons avaliados.

Esse resultado é particularmente importante do ponto de vista farmacognóstico, pois indica que a CCDAE, quando adequadamente otimizada, pode funcionar como ferramenta auxiliar na autenticação de *B. trimera*. A presença de quercetina, metoxiquercetina, kaempferol e possíveis derivados de kaempferol parece contribuir para a singularidade do perfil químico da espécie. Isso é coerente com o fato de que flavonoides e compostos fenólicos constituem uma das classes químicas mais relevantes no gênero *Baccharis*, tanto sob o ponto de vista quimiotaxonômico quanto farmacológico (Barbosa *et al.*, 2023).

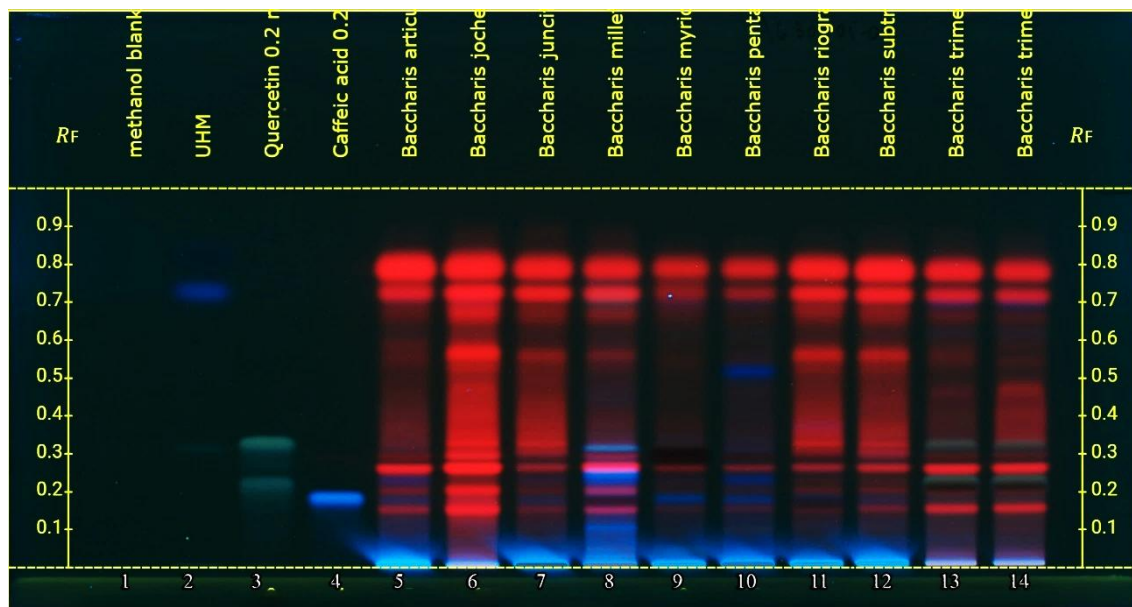
Figura 47 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) – faixa 14.

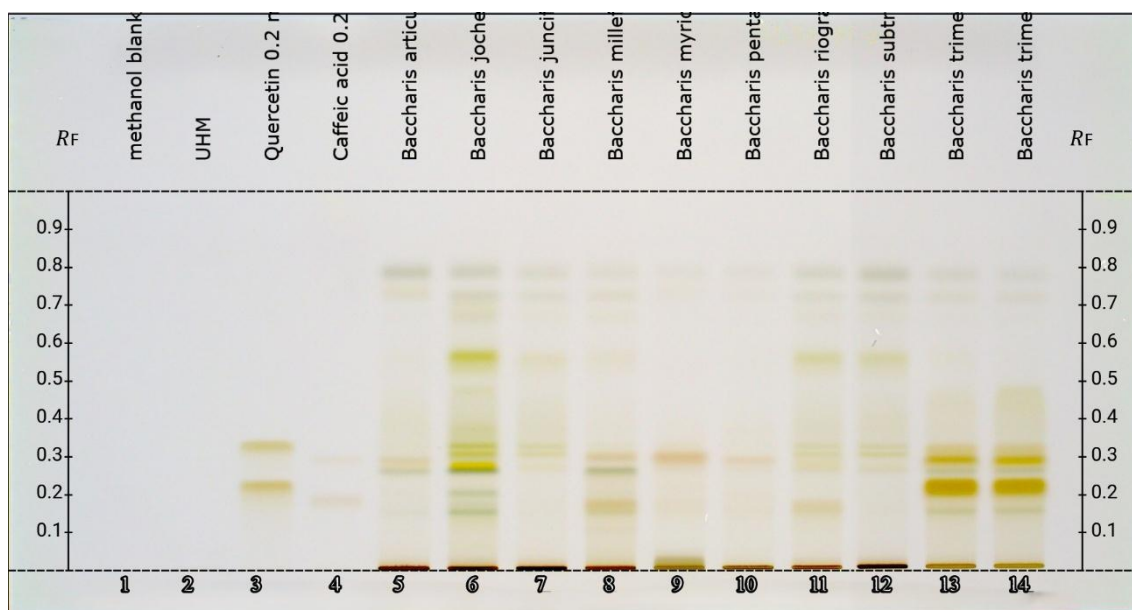
Figura 48 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) – faixa 14.

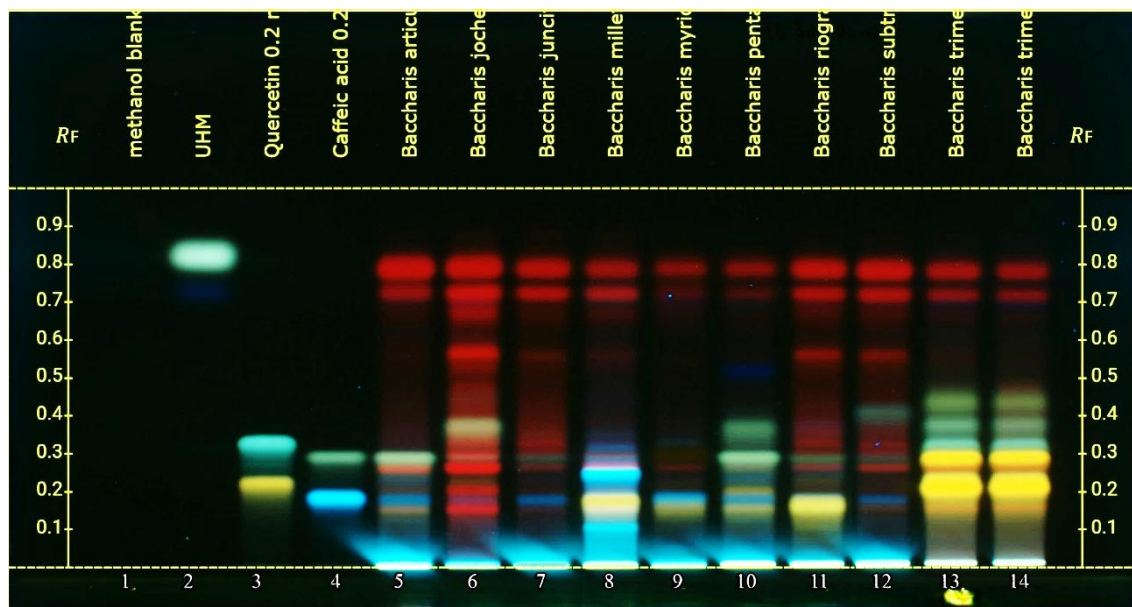
Figura 49 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) - faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) - faixa 14.

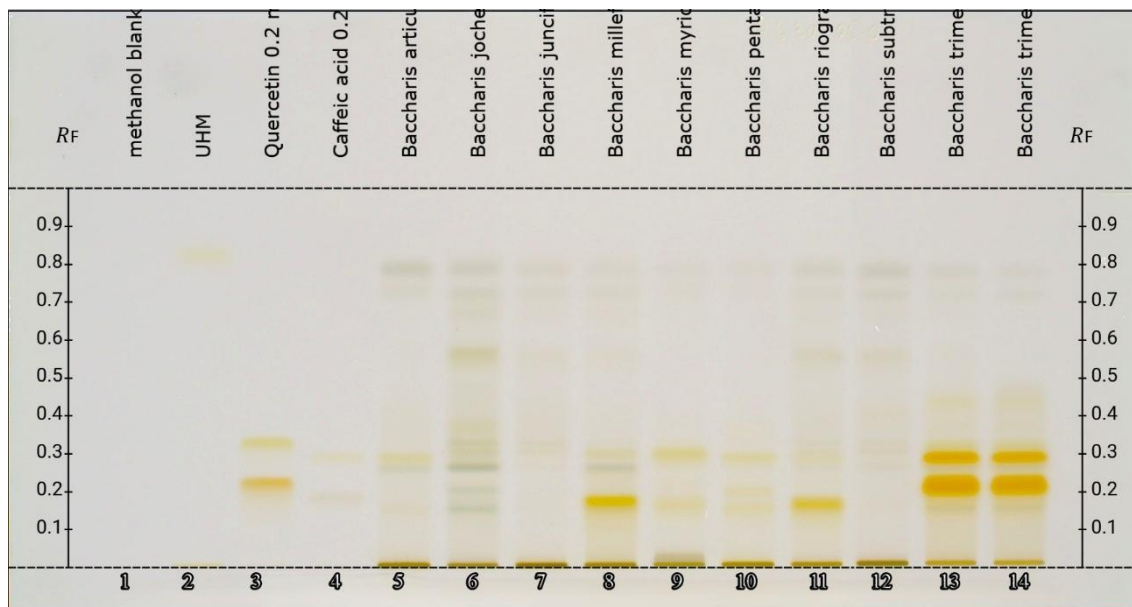
Figura 50 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) - faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) - faixa 14.

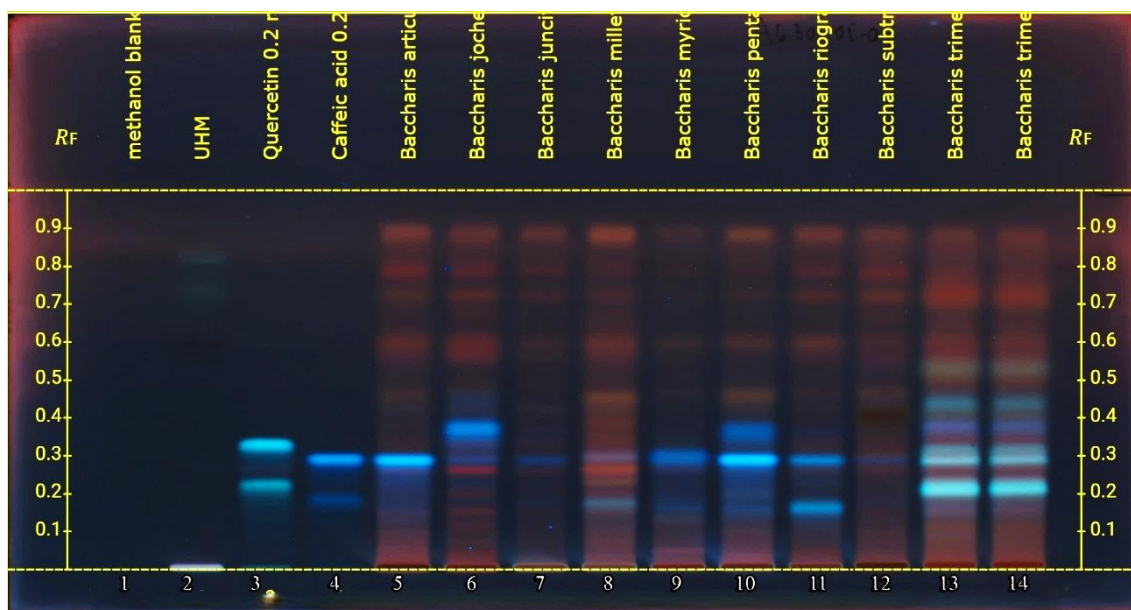
Figura 51 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3; ácido cafeico - faixa 4, *Baccharis articulata* - faixa 5; *Baccharis jocheniana* - faixa 6; *Baccharis junciformis* - faixa 7; *Baccharis milleflora* - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) - faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) - faixa 14.

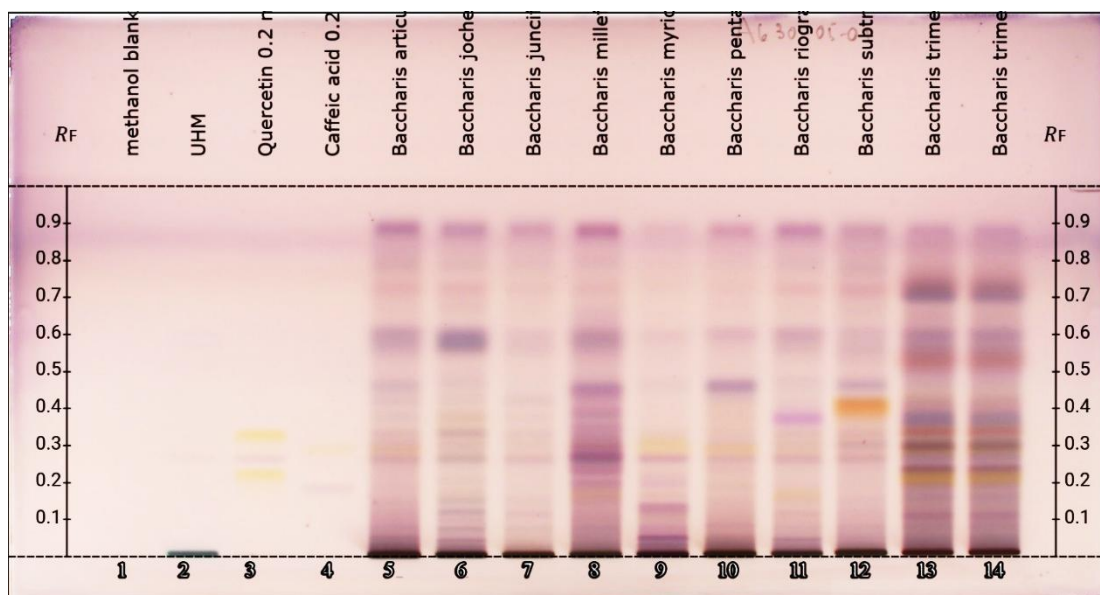
Figura 52 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product® mais p-anisaldeído.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) – faixa 14.

Figura 53 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Natural Product® mais p-anisaldeído.

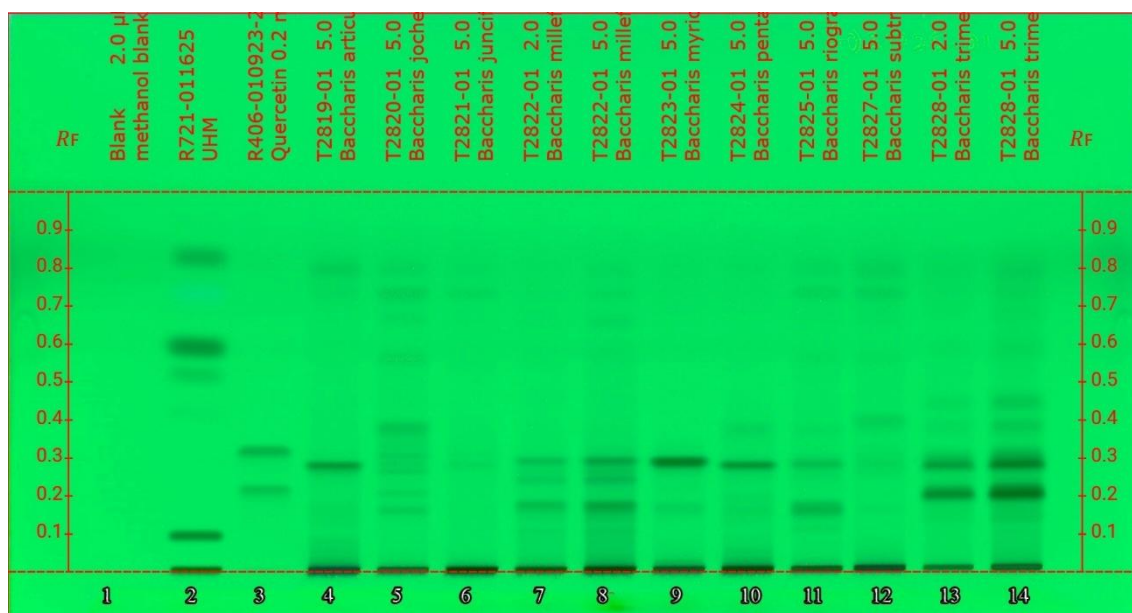


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3; ácido cafeico – faixa 4, *Baccharis articulata* – faixa 5; *Baccharis jocheniana* – faixa 6; *Baccharis junciformis* – faixa 7; *Baccharis milleflora* – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (200 mg/ 2 mL metanol) – faixa 13; *Baccharis trimera* (200 mg/ 1,5 mL metanol) – faixa 14.

Após a definição da condição cromatográfica mais adequada para identificação, as espécies foram avaliadas com derivatização por Folin-Ciocalteu (Figuras 54–57), com o objetivo de evidenciar qualitativamente compostos fenólicos. Nessa análise, *B. milleflora* e *B. trimera* apresentaram bandas mais evidentes na região apolar da placa, sugerindo maior concentração relativa de constituintes fenólicos menos polares nessas espécies. Esse resultado amplia a interpretação do perfil químico, mostrando que a diferenciação entre os táxons não depende apenas da presença de flavonoides clássicos em regiões mais polares, mas também da distribuição de compostos ativos em regiões cromatográficas de menor polaridade.

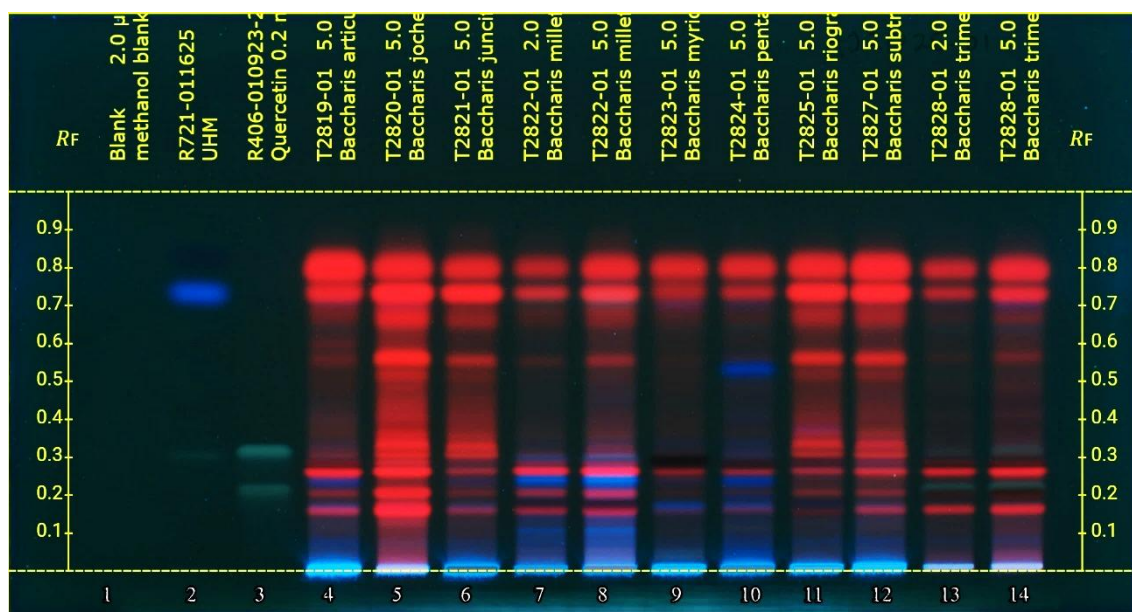
Figura 54 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 μ L) – faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 μ L) – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (2 μ L) – faixa 13; *Baccharis trimera* (5 μ L) – faixa 14.

Figura 55 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.

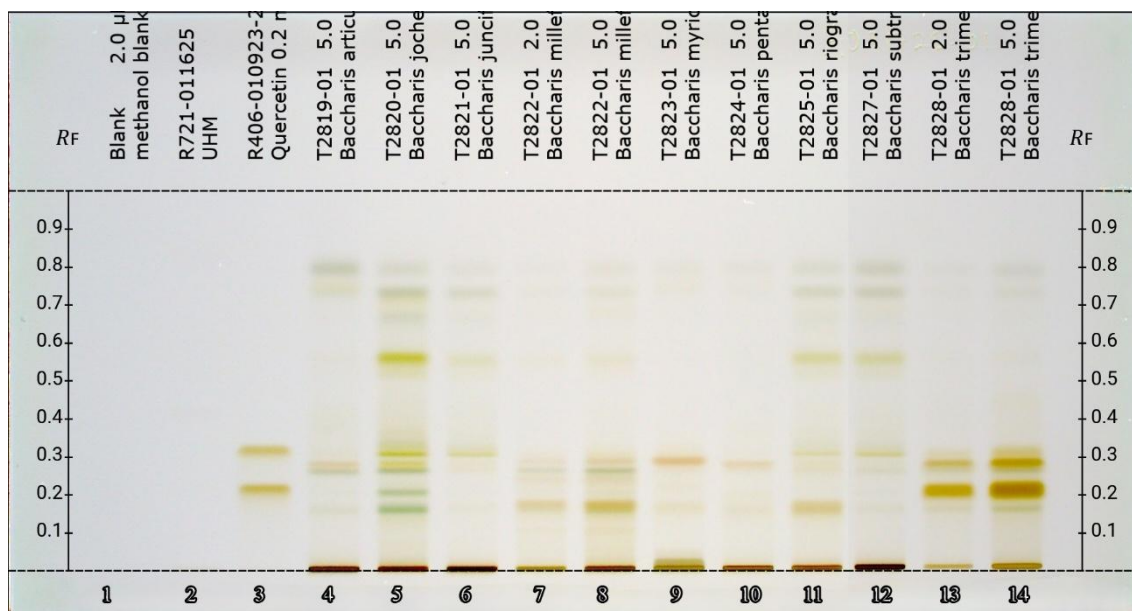


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 μ L) – faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 μ L) –

faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) – faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) – faixa 14.

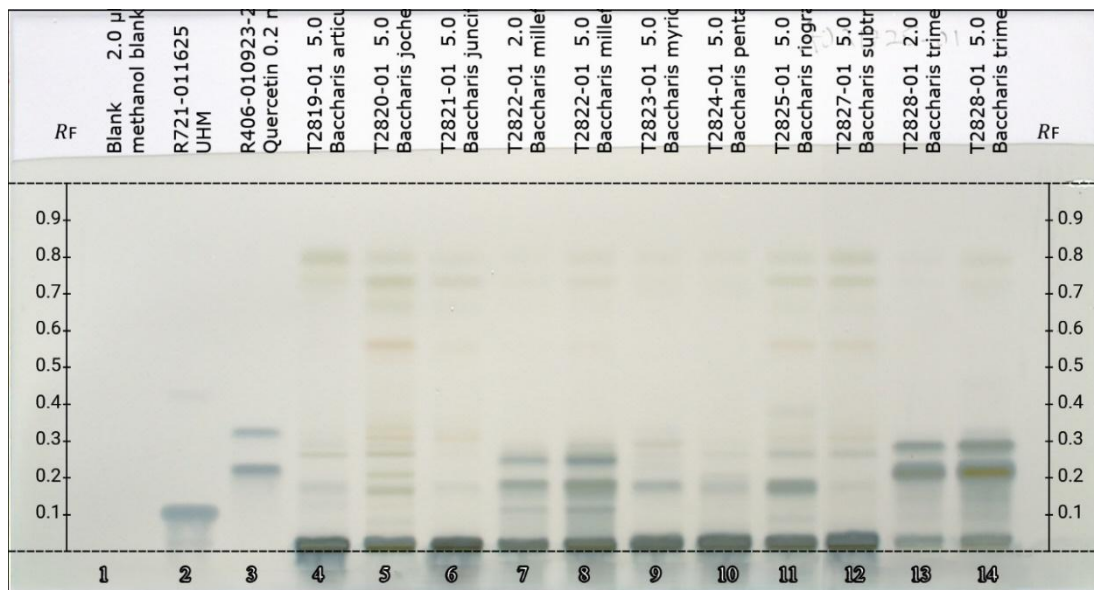
Figura 56 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) – faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) – faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) – faixa 14.

Figura 57 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com Folin-Ciocalteu.



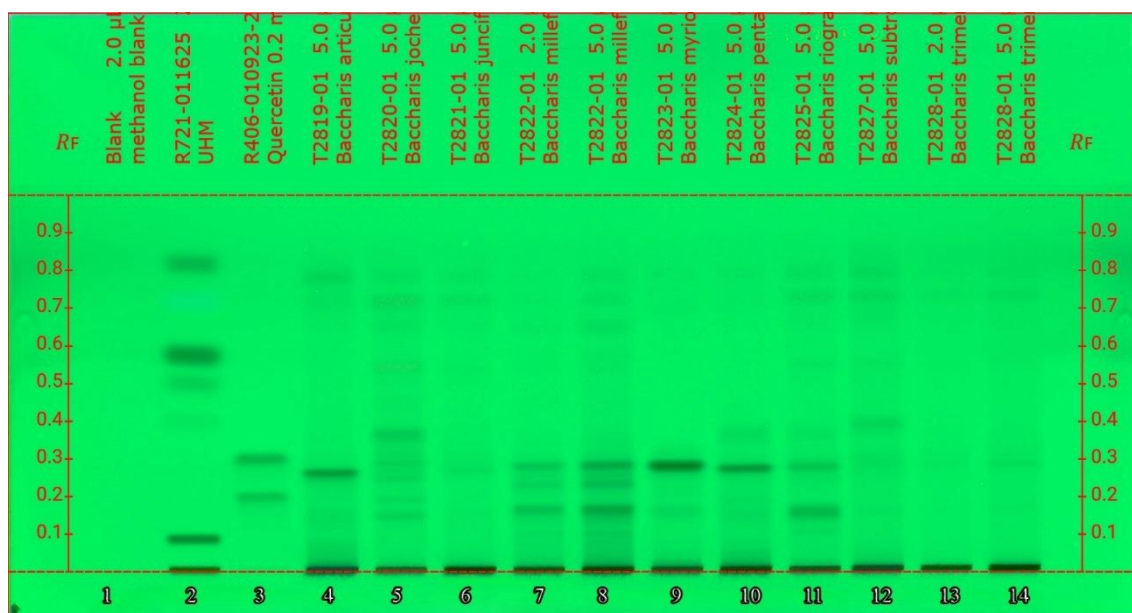
Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3; *Baccharis articulata* - faixa 4; *Baccharis jocheniana* - faixa 5; *Baccharis junciformis* - faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) - faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) - faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) - faixa 14.

Posteriormente, as placas cromatográficas foram derivatizadas com DPPH (Figuras 58–61), visando detectar qualitativamente constituintes com atividade antioxidante. O ensaio com DPPH baseia-se na redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil por compostos com capacidade sequestrante de radicais, sendo amplamente utilizado para avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais (Baliyan *et al.*, 2022). Quando acoplado à cromatografia planar, esse ensaio permite visualizar diretamente as zonas cromatográficas responsáveis pela atividade antioxidante, constituindo uma ferramenta útil para rastreamento de compostos bioativos em misturas complexas (Islam *et al.*, 2021).

Nos resultados obtidos, *B. milleflora* e *B. trimera* apresentaram novamente as bandas de maior reatividade aparente na região de compostos mais apolares da placa. Esse comportamento sugere maior concentração de compostos fenólicos com atividade antirradical nessas espécies. Em espécies de *Baccharis*, flavonóis e derivados cafeoilquínicos têm sido frequentemente associados a atividade antioxidante significativa, reforçando a interpretação funcional das zonas cromatográficas observadas (Retamozo *et al.*, 2023).

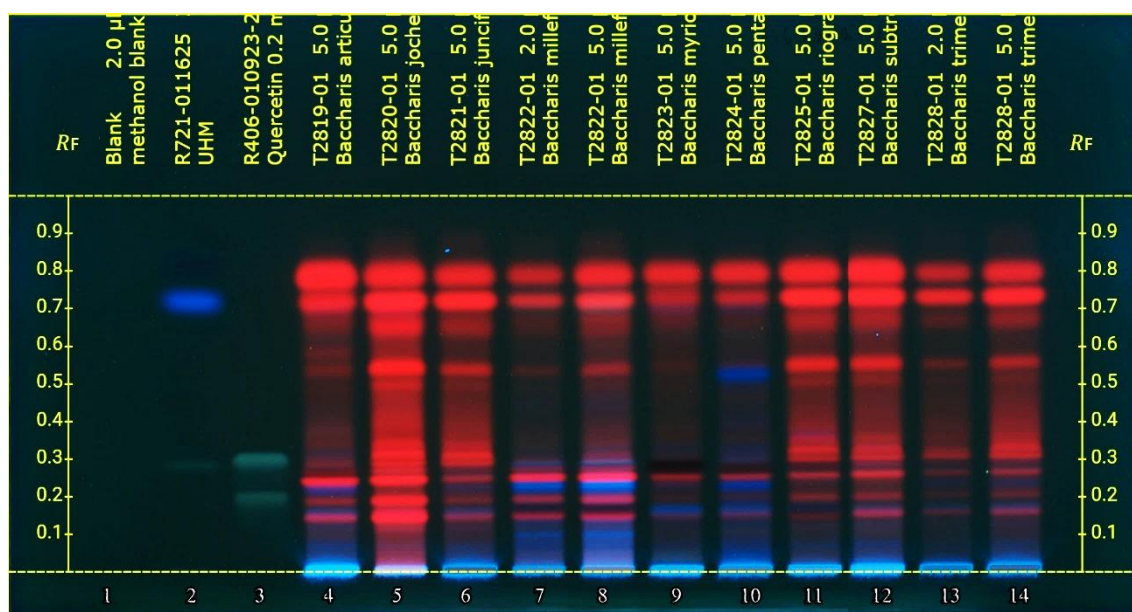
Figura 58 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3, *Baccharis articulata* - faixa 4; *Baccharis jocheniana* - faixa 5; *Baccharis junciformis* - faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) - faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) - faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) - faixa 14.

Figura 59 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.

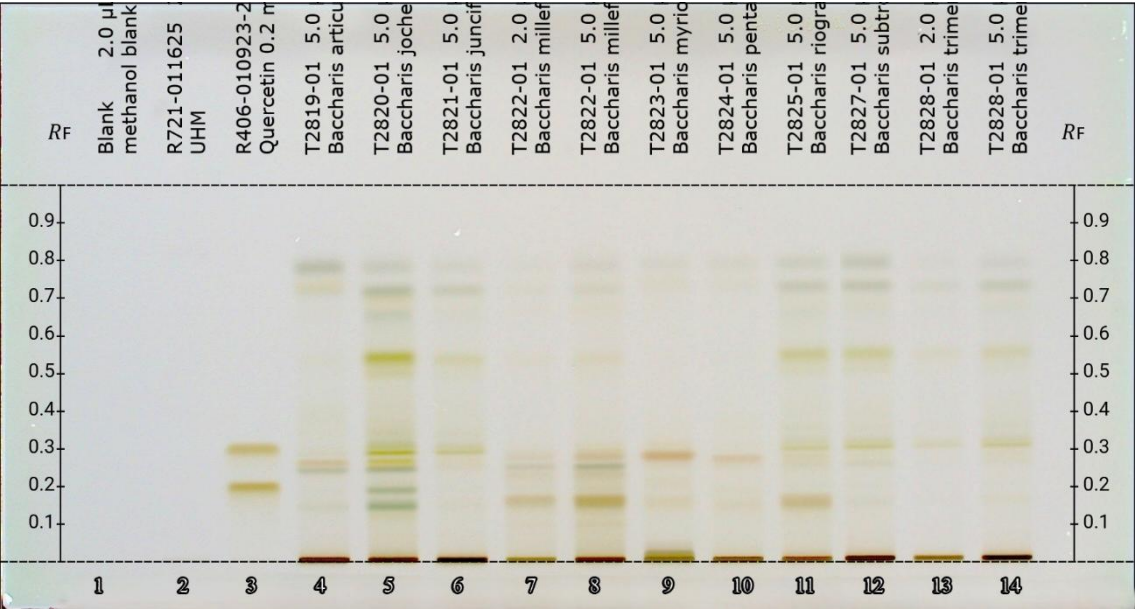


Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3, *Baccharis articulata* - faixa 4; *Baccharis jocheniana* - faixa 5; *Baccharis junciformis* - faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) - faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* -

faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) – faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) – faixa 14.

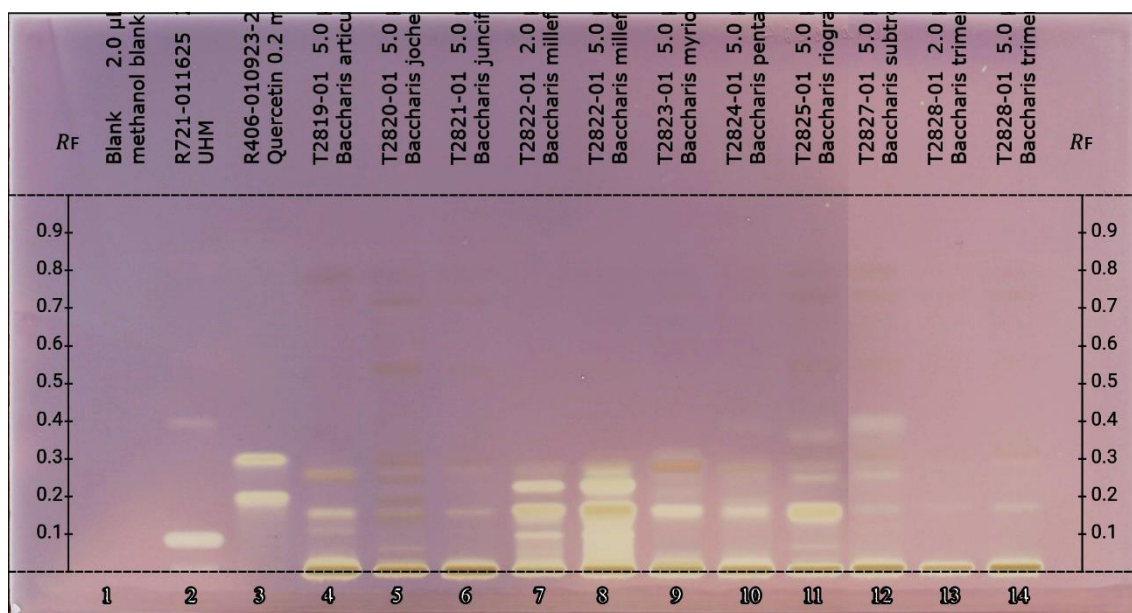
Figura 60 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM – faixa 2; Quercetina – faixa 3, *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) – faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) – faixa 8; *Baccharis myriocephala* – faixa 9; *Baccharis pentaptera* – faixa 10; *Baccharis riograndensis* – faixa 11; *Baccharis subtropicalis* – faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) – faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) – faixa 14.

Figura 61 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e os padrões submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com DPPH.



Fonte: O autor.

Notas: Branco - faixa 1; UHM - faixa 2; Quercetina - faixa 3, *Baccharis articulata* - faixa 4; *Baccharis jocheniana* - faixa 5; *Baccharis junciformis* - faixa 6; *Baccharis milleflora* (2 µL) - faixa 7; *Baccharis milleflora* (5 µL) - faixa 8; *Baccharis myriocephala* - faixa 9; *Baccharis pentaptera* - faixa 10; *Baccharis riograndensis* - faixa 11; *Baccharis subtropicalis* - faixa 12; *Baccharis trimera* (2 µL) - faixa 13; *Baccharis trimera* (5 µL) - faixa 14.

Em conjunto, os resultados demonstram que a escolha do método cromatográfico adequado exigiu otimização progressiva da fase móvel e das condições de revelação. O método universal para flavonoides apresentou baixa seletividade para a diferenciação das espécies analisadas, enquanto o método farmacopeico constituiu um ponto de partida mais adequado, embora ainda necessitasse refinamento. A condição utilizando acetato de etila:tolueno:ácido fórmico (30:70:1 v/v), associada à derivatização com Natural Product® e leitura sob UV 366 nm, foi a que apresentou maior capacidade discriminatória, permitindo distinguir *B. trimera* de forma mais consistente.

Adicionalmente, os ensaios cromatográficos com Folin-Ciocalteu e DPPH ampliaram a interpretação do perfil químico das espécies, evidenciando diferenças na distribuição de compostos fenólicos e antioxidantes ao longo da placa cromatográfica. Dessa forma, a CCDAE mostrou-se uma ferramenta útil tanto para perfis cromatográficos químico quanto para avaliação preliminar da atividade antioxidante, contribuindo para a caracterização farmacognóstica das espécies de *Baccharis* analisadas.

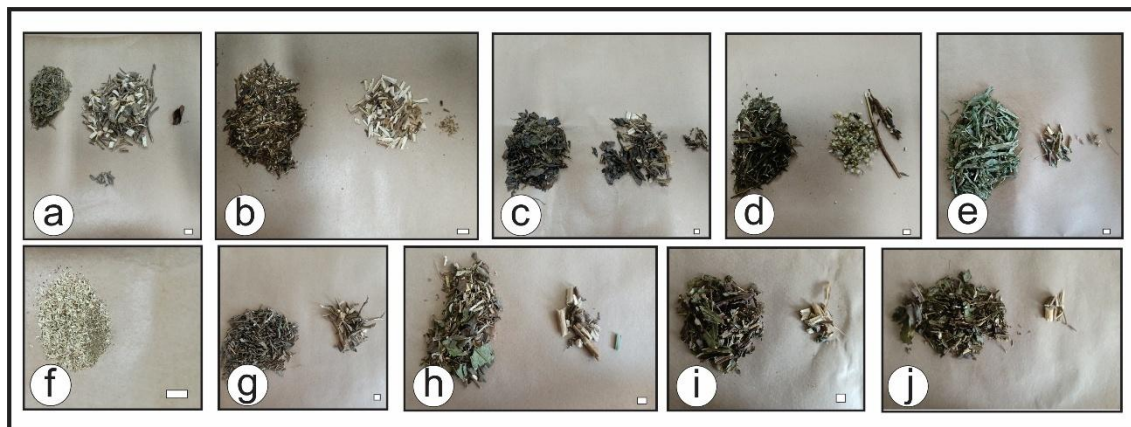
5.8 CONTROLE DA QUALIDADE DE AMOSTRAS COMERCIAIS

5.7.1 Pesquisa de matéria estranha

Para o controle da qualidade das amostras comercializadas, os produtos analisados foram identificados pela sigla “AM”, numerados de AM1 a AM10. As análises estão apresentadas na Figura 62 e 63. A Figura 62 corresponde ao preparo inicial das amostras, incluindo pesagem e separação da matéria estranha, enquanto a Figuras 63 mostra a análise microscópica do pó.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, 7ª edição, o limite de matéria estranha para a droga vegetal carqueja é de, no máximo, 2% (Brasil, 2024). Os valores obtidos para as amostras comerciais analisadas estão apresentados na Tabela 11.

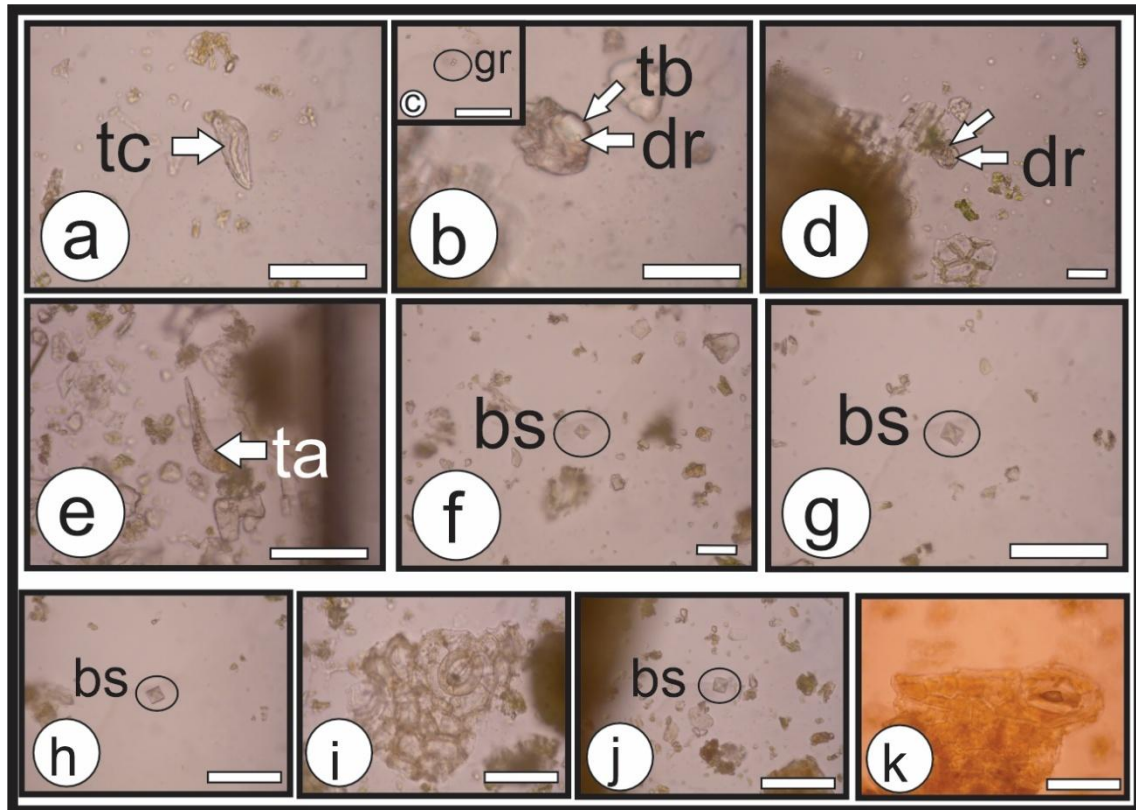
Figura 62 - Amostras comerciais após separação de matéria estranha



Fonte: O autor.

Notas: Separação da matéria estranha (Figura a-j). Amostra 1 (a); Amostra 2 (b); Amostra 3 (c); Amostra 4 (d); Amostra 5 (e); Amostra 6 (f); Amostra 7 (g); Amostra 8 (h); Amostra 9 (i); Amostra 10 (j). Barra de escala: a-j: 1 cm.

Figura 63 – Microscopia do pó das amostras comerciais.



Fonte: O autor.

Notas: lâmina do pó (Figura a-k). Amostra 1 (a); Amostra 2 (b,c); Amostra 3 (d); Amostra 4 (e); Amostra 5 (f); Amostra 6 (g); Amostra 7 (h); Amostra 8 (i); Amostra 9 (j); Amostra 10 (k). bs: bipiramidal simples; dr: drusa; gr: areia cristalina em formato de gravata; ta: tricoma armado; tb: tricoma bisseriado. Barra de escala: a-k: 100 μ m.

Tabela 11 – Identificação das amostras comerciais por microscopia e porcentagem de matéria estranha.

Amostra	Porcentagem (%) de matéria estranha
AM1	84,87%
AM2	35,05%
AM3	59,05%
AM4	19,76%
AM5	1,86%
AM6	0%
AM7	45,45%
AM8	31,84%
AM9	1,52%
AM10	0,90%

Fonte: O autor.

Conforme mostra na Tabela 11, a maior parte das amostras apresentou porcentagem de matéria estranha superior ao limite farmacopeico estabelecido. Apenas as amostras AM5, AM6, AM9 e AM10 atenderam ao critério de conformidade (porcentagens menores que 2%), enquanto as demais foram reprovadas por excesso de material estranho. Entre os valores mais críticos, destacaram-se AM1, com 84,87%, AM3, com 59,05%, e AM7, com 45,45%, indicando grave comprometimento da qualidade da matéria-prima comercializada.

A análise macroscópica e microscópica demonstrou que a matéria estranha era constituída principalmente por órgãos vegetais não correspondentes ao farmacógeno, especialmente caules, flores e outras frações vegetativas associadas à *Baccharis* spp. No caso da carqueja oficial, o farmacógeno reconhecido microscopicamente corresponde aos cladódios, de modo que a presença de outros órgãos vegetais configura não conformidade da droga vegetal e compromete sua padronização botânica e farmacognóstica (Brasil, 2024).

A presença de caules foi observada em praticamente todas as amostras, com exceção de AM6, evidenciando deficiência no processo de seleção e preparo da droga vegetal. Esse achado sugere falhas na coleta, triagem ou beneficiamento do material comercializado, refletindo baixa padronização da cadeia produtiva. Além disso, a incorporação de órgãos que não sejam o

farmacógeno pode alterar a composição química global da amostra, interferindo na homogeneidade dos constituintes bioativos e, conseqüentemente, na qualidade do produto final.

5.7.2 Análise microscópica

A análise microscópica das amostras comerciais permitiu reconhecer diferentes elementos diagnósticos relevantes para a triagem botânica do material vegetal, demonstrando o valor da microscopia no controle da qualidade farmacognóstico de produtos comercializados como carqueja. Entre os caracteres observados, destacou-se a presença de tricoma tector clavado na amostra AM1, caráter compatível com *B. trimera*, indicando maior proximidade botânica dessa amostra com a espécie oficial da droga vegetal.

As amostras AM2 e AM3 apresentaram tricoma glandular bisseriado associado a um par de drusas, caráter observado em espécies como *B. articulata*, *B. junciformis* e *B. subtropicalis*. Na AM2, a presença adicional de areia cristalina em formato de gravata permitiu restringir mais a interpretação, uma vez que esse elemento também foi registrado em *B. articulata* e *B. junciformis*. Esses resultados mostram que, embora um único caráter microscópico raramente seja suficiente para identificação específica inequívoca, a combinação de múltiplos elementos anatômicos podem aumentar significativamente o poder discriminatório da análise.

Além disso, a morfologia cristalina merece destaque na análise microscópica de amostras comerciais, pois esses elementos são frequentemente preservados e facilmente evidenciados mesmo em material fragmentado ou pulverizado. Em estudos farmacognósticos, cristais de oxalato de cálcio são considerados marcadores anatômicos relevantes, uma vez que sua forma, distribuição e associação com tecidos específicos podem contribuir para a caracterização botânica da droga vegetal. No gênero *Baccharis*, já foram descritos diferentes morfotipos cristalinos, incluindo cristais bipiramidais, drusas, areia cristalina, estiloides e outras variações, evidenciando que esses elementos apresentam utilidade diagnóstica e comparativa entre espécies. Dessa forma, em amostras comerciais nas quais tricomas, epiderme ou organização tecidual se encontram parcial ou totalmente desestruturados, a observação de cristais pode representar um critério complementar importante para a triagem farmacobotânica e para o reconhecimento de não conformidades no material analisado (Antunes *et al.*, 2024; Raeski *et al.*, 2023).

Na amostra AM4, foi observado tricoma armado, estrutura compatível com espécies como *B. myriocephala* e *B. riograndensis*. Já as amostras AM5, AM6, AM7 e AM9 apresentaram cristal do tipo bipiramidal simples, elemento registrado em várias espécies

analisadas, incluindo *B. articulata*, *B. junciformis*, *B. milleflora*, *B. pentaptera* e *B. subtropicalis*. Esse resultado evidencia que alguns caracteres microscópicos possuem baixo poder discriminatório isoladamente, sendo úteis principalmente como evidência complementar dentro de um conjunto de caracteres.

As amostras AM8 e AM10 apresentaram epiderme com baixa densidade estomática, padrão compatível com espécies como *B. milleflora* e *B. subtropicalis*. Entretanto, esse tipo de caráter deve ser interpretado com cautela, uma vez que sua avaliação em material comercial fragmentado ou pulverizado pode ser influenciada pela qualidade da amostra, pela representatividade dos fragmentos analisados e pela dificuldade de observação de campos epidérmicos comparáveis.

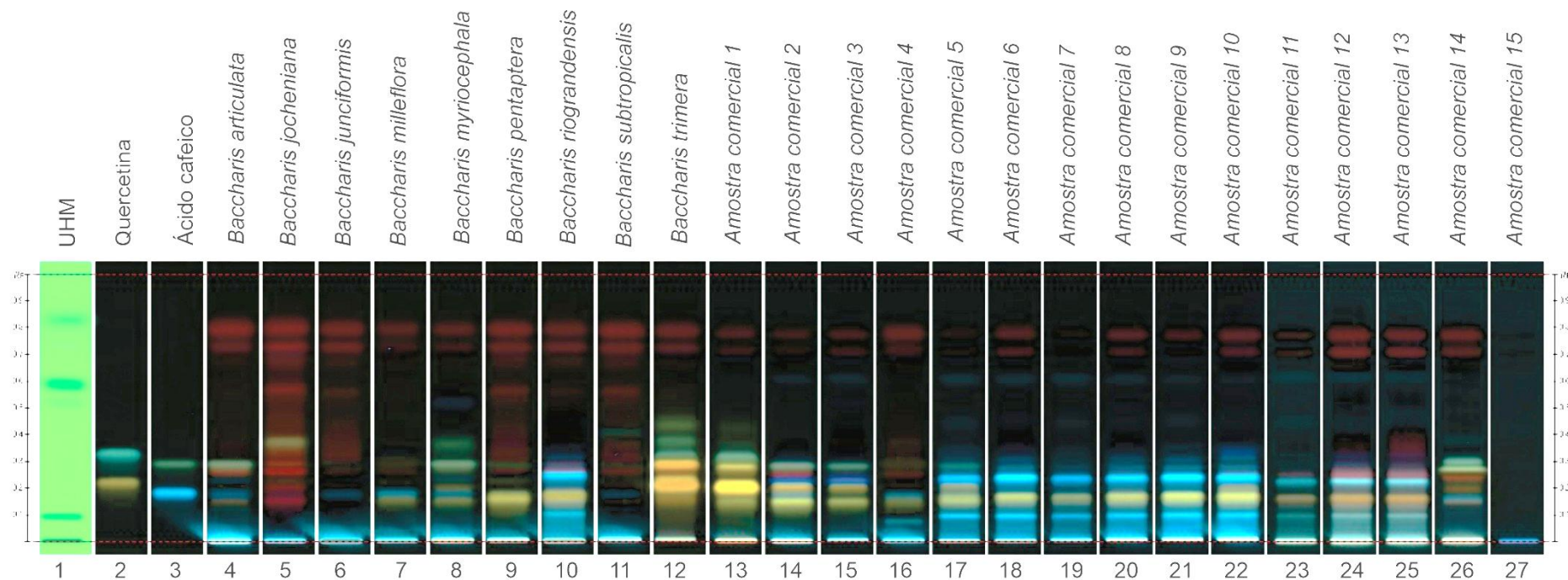
De modo geral, os resultados mostram que a microscopia foi eficiente para reconhecer estruturas botânicas diagnósticas e para restringir a identidade provável de parte das amostras comerciais, mas não foi sempre suficiente para permitir identificação específica conclusiva. Essa limitação decorre principalmente do estado físico do material analisado, já que a maioria das amostras se encontrava fragmentada ou pulverizada, o que reduz a preservação de caracteres morfológicos mais amplos e dificulta a visualização integrada dos tecidos.

Sob a perspectiva farmacognóstica, esse achado é relevante porque demonstra que a microscopia do pó continua sendo ferramenta valiosa para triagem, detecção de não conformidades e reconhecimento de elementos diagnósticos em amostras comerciais, mesmo quando a droga vegetal não está íntegra. No entanto, quando os fragmentos botânicos não permitem associação inequívoca entre os caracteres observados e uma única espécie, torna-se necessária a associação com métodos complementares, como a cromatografia em camada delgada de alta eficiência. Assim, a integração entre análise microscópica e o perfil cromatográfico amplia a confiabilidade da autenticação botânica e química das amostras comercializadas como carqueja.

5.7.3 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência

Para o controle da qualidade de produtos comercializados por cromatografia em camada delgada de alta eficiência, as amostras comerciais foram identificadas com a sigla “AM”, sendo elas indicadas de “AM1” até “AM15”. O preparo e a aplicação das amostras foram os mesmos das metodologias anteriormente descritas. Análise foi feita utilizando acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (30:70:1 v/v), como mostra a Figura 64.

Figura 64 - Amostras de *Baccharis* (sect. *Caulopterae* e *Aphyllae*) e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®. UHM sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: UHM - faixa 1; quercetina – faixa 2; ácido cafeico – faixa 3; *Baccharis articulata* – faixa 4; *Baccharis jocheniana* – faixa 5; *Baccharis junciformis* – faixa 6; *Baccharis milleflora* – faixa 7; *Baccharis myriocephala* – faixa 8; *Baccharis pentaptera* – faixa 9; *Baccharis riograndensis* – faixa 10; *Baccharis subtropicalis* – faixa 11; *Baccharis trimera* – faixa 12; AM1 – faixa 13; AM2 – faixa 14; AM3 – faixa 15; AM4 – faixa 16; AM5 – faixa 17; AM6 – faixa 18; AM7 – faixa 19; AM8 – faixa 20; AM9 – faixa 21; AM10 – faixa 22; AM11 – faixa 23; AM12 – faixa 24; AM13 – faixa 25; AM14 – faixa 26; AM15; - faixa 27.

Para o controle da qualidade das amostras comerciais por cromatografia em camada delgada de alta eficiência, os produtos analisados foram identificados pela sigla “AM”, numerados de AM1 a AM15. As amostras foram analisadas nas mesmas condições cromatográficas previamente estabelecidas como mais discriminatórias para as espécies de *Baccharis*, empregando-se a fase móvel acetato de etila:tolueno:ácido fórmico (30:70:1 v/v) e derivatização com 2-aminoetil difenilborinato (Natural Product®), com leitura sob UV 366 nm. Essa estratégia é coerente com o uso atual de perfil cromatográfico em drogas vegetais, uma vez que a CCDAE é amplamente reconhecida como ferramenta útil para autenticação botânica, detecção de adulterações e avaliação de consistência química em matérias-primas vegetais (Lindenmaier *et al.*, 2025).

A comparação entre os perfis cromatográficos das amostras comerciais e os perfis de referência obtidos para as espécies estudadas mostrou concordância expressiva entre a análise química e os dados da microscopia. A amostra AM1 apresentou perfil cromatográfico compatível com *B. trimera*; as amostras AM2, AM3 e AM14 apresentaram perfis compatíveis com *B. articulata*; a amostra AM4 foi compatível com *B. myriocephala*; e as amostras AM5 a AM13 exibiram perfis compatíveis com *B. milleflora*. A amostra AM15 não apresentou perfil cromatográfico interpretável nas condições empregadas, o que pode refletir baixa concentração de constituintes diagnósticos, degradação do material vegetal, composição botânica distinta das espécies de referência ou interferência de matriz do produto comercial. Como a CCDAE fornece compatibilidade de perfil cromatográfico, e não identificação estrutural definitiva dos constituintes, essa interpretação deve ser entendida como inferência comparativa baseada no conjunto de bandas observado.

Esses resultados reforçam a utilidade da CCDAE como método complementar à microscopia no controle farmacognóstico de carquejas comercializadas. Isso é especialmente relevante quando a amostra se encontra fragmentada ou pulverizada. A integração entre anatomia e o perfil químico aumenta a robustez da autenticação, porque permite confrontar a identidade botânica provável com um perfil cromatográfico comparativo, reduzindo o risco de erro associado ao uso isolado de um único tipo de análise. Essa abordagem integrada é consistente com a tendência recente de autenticação botânica por múltiplas técnicas, combinando identificação botânica, perfis fitoquímicos e, quando necessário e possível, ferramentas moleculares (Antunes *et al.*, 2023a; Manfron, 2021).

Do ponto de vista da distribuição das espécies nas amostras avaliadas, *B. milleflora* foi a mais frequentemente detectada, seguida por *B. articulata*, enquanto apenas uma amostra apresentou perfil compatível com *B. trimera* e uma com *B. myriocephala*. Não foram

observados perfis compatíveis com *B. jocheniana*, *B. junciformis*, *B. pentaptera*, *B. riograndensis* ou *B. subtropicalis* nas amostras comerciais deste estudo. Esse achado é relevante porque, embora *B. trimera* seja a espécie oficial farmacopeica para a droga vegetal carqueja no Brasil, o mercado pode conter outras espécies do gênero comercializadas sob a mesma denominação popular, o que compromete a padronização botânica e potencialmente altera a composição química do produto. A Farmacopeia Brasileira reconhece *B. trimera* como espécie de referência para carqueja, de modo que a substituição por outras espécies representa não conformidade em relação ao padrão farmacopeico nacional (Brasil, 2024).

A discrepância entre a espécie oficialmente reconhecida e as espécies efetivamente detectadas nas amostras comerciais também deve ser interpretada à luz do contexto regulatório. Vale destacar que as amostras AM11-AM15 que não apresentaram *B. trimera*, foram adquiridas no comércio americano. No Brasil, a RDC nº 1004/2025 define e disciplina as categorias de medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, exigindo parâmetros de qualidade compatíveis com o enquadramento regulatório. Nos Estados Unidos, por outro lado, produtos botânicos são frequentemente comercializados como “dietary supplements”, categoria sujeita a regime distinto daquele aplicado a medicamentos (Kim, 2021). Na União Europeia, produtos vegetais podem seguir o procedimento específico de registro simplificado para “traditional herbal medicinal products” (Qu *et al.*, 2014). Essas diferenças regulatórias dificultam a harmonização internacional da padronização e do controle da qualidade.

No conjunto das amostras brasileiras, os resultados cromatográficos precisam ser interpretados em associação com a pesquisa de matéria estranha, já que apenas quatro das dez amostras previamente avaliadas atenderam ao limite farmacopeico para esse parâmetro. Isso indica que a inadequação comercial não se restringe à identidade botânica, mas envolve também a composição física da droga vegetal e a presença de órgãos não farmacopeicos. Em termos práticos, isso significa que a baixa qualidade pode decorrer simultaneamente de substituição de espécie, mistura de espécies e falhas de beneficiamento do material vegetal. A literatura recente sobre autenticação de espécies vegetais tem enfatizado justamente que a adulteração e a não conformidade podem ocorrer em múltiplos níveis, desde a identificação taxonômica incorreta até problemas de processamento e padronização da matéria-prima (Antunes *et al.*, 2023a; Antunes *et al.*, 2023b; Botto *et al.*, 2025, El Zein *et al.*, 2025).

A ausência de perfil cromatográfico detectável em AM15 merece atenção especial. Em vez de ser tratada apenas como “amostra sem perfil”, ela deve ser discutida como resultado analiticamente significativo. Uma amostra sem correspondência com os perfis de referência pode indicar produto extremamente pobre em marcadores detectáveis, formulação com baixa

proporção de material vegetal da espécie alegada, degradação química dos constituintes ou até presença de matéria-prima distinta daquelas avaliadas no estudo. Portanto, a não correspondência também é um dado de controle da qualidade, e não simplesmente uma ausência de informação. Esse raciocínio está alinhado com o uso contemporâneo de perfis cromatográficos, no qual perfis incompatíveis são interpretados como sinais de alerta para autenticidade ou consistência insatisfatória do produto (Lindenmaier *et al.*, 2025).

De forma geral, os resultados demonstram que a CCDAE foi eficaz para discriminar amostras comerciais com perfis compatíveis com espécies distintas de *Baccharis* e para corroborar com os achados microscópicos previamente descritos. A predominância de *B. milleflora* e *B. articulata* entre as amostras comercializadas, somada à baixa frequência de *B. trimera*, evidencia que a denominação popular “carqueja” não garante conformidade farmacopeica nem autenticidade botânica. Assim, a aplicação integrada de microscopia e perfil cromatográfico mostra-se essencial para a avaliação crítica da autenticidade de produtos comerciais (Manfron, 2021) derivados de *Baccharis*.

6 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que, apesar da elevada similaridade morfológica entre as espécies de carquejas analisadas, a integração de caracteres microscópicos qualitativos e quantitativos permite sua diferenciação de forma segura e consistente. A combinação entre morfologia dos cladódios, tipos de tricomas, padrões cuticulares, tipologia e distribuição dos cristais, presença de corpos oleosos no clorênquima, índice estomático e dimensões estomáticas revelou alto valor diagnóstico e confirmou o potencial da anatomia vegetal como ferramenta aplicada à autenticação farmacobotânica de espécies de *Baccharis*.

Os resultados evidenciaram marcadores distintivos relevantes para a separação das nove espécies estudadas, incluindo a ocorrência de tricomas bisseriados com drusas nas células apicais em *B. articulata*, *B. junciformis* e *B. subtropicalis*; o tricoma tector unisseriado clavado como caráter exclusivo de *B. trimera*; o tricoma tector unisseriado armado em *B. myriocephala* e *B. riograndensis*; o tricoma glandular unisseriado flageliforme em *B. pentaptera*; e a presença de corpos oleosos no clorênquima em espécies específicas, como *B. jocheniana* e *B. milleflora*. Além disso, a diversidade de morfotipos cristalinos e a associação desses caracteres com parâmetros estomáticos e estruturais ampliaram significativamente a precisão diagnóstica, demonstrando que a delimitação interespecífica nesse complexo depende de abordagem integrada, e não de caracteres isolados.

A CCDAE reforçou essa capacidade discriminatória ao revelar perfis cromatográficos distintos entre todas as espécies, com melhor definição sob UV 366 nm após derivatização com o reagente Natural Product®. Assim, a correspondência entre dados anatômicos e perfis cromatográficos conferiu maior robustez aos resultados e evidenciou que a associação entre marcadores microscópicos e químicos constitui estratégia promissora para a autenticação de drogas vegetais comercializadas como carqueja.

Entre os achados mais relevantes do estudo, destaca-se a análise das amostras comerciais, que revelou importante discrepância entre a espécie farmacopeica de referência e o material efetivamente comercializado. Apenas uma das 15 amostras avaliadas apresentou perfil cromatográfico compatível com *B. trimera*, enquanto a maioria exibiu perfil correspondente à *B. milleflora*. Esse resultado sugere substituição botânica frequente no mercado e expõe uma fragilidade crítica no controle da qualidade dessas matérias-primas. De modo convergente, a análise de matéria estranha mostrou que 60% das amostras avaliadas estavam em desacordo com o limite farmacopeico, confirmando um cenário de baixa conformidade e reforçando a relevância sanitária e regulatória deste trabalho.

Nesse contexto, a principal contribuição desta investigação reside em demonstrar, com base experimental consistente, que a autenticação de carquejas exige a abordagem de múltiplos parâmetros capazes de integrar anatomia e perfil químico. O estudo não apenas amplia o conhecimento farmacobotânico sobre espécies de *Baccharis*, mas também fornece subsídios concretos para o aprimoramento do controle da qualidade, para a prevenção de adulterações e substituições indevidas e para o fortalecimento da segurança e da padronização de fitoterápicos.

Além disso, os resultados obtidos projetam implicações diretas para pesquisas futuras, especialmente em relação à *B. milleflora*, cuja frequência nas amostras comerciais contrasta com a escassez de dados químicos, farmacológicos e toxicológicos disponíveis. A necessidade de aprofundar a investigação dessa espécie, bem como de outras integrantes do complexo carqueja, torna-se evidente diante de seu potencial impacto sobre a qualidade, a eficácia e a segurança de produtos vegetais amplamente utilizados. Assim, este estudo estabelece um referencial sólido para a diferenciação diagnóstica de espécies de *Baccharis* e representa uma contribuição relevante para a farmacobotânica, a farmacognosia aplicada e a qualificação de insumos farmacêuticos ativos vegetais no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Comparative morphoanatomical analysis of *Mikania* species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 9–19, fev. 2017.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Microscopy and Histochemistry of Leaves and Stems of *Baccharis* Subgenus *Coridifoliae* (Asteraceae) Through LM and SEM-EDS. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1273–1289, out. 2021.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Chemical Profiles and Cytotoxic Activities of Essential Oils from Six Species of *Baccharis* Subgenus *Coridifoliae* (Asteraceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 10, p. e202300862, 2023.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Diuretic and saluretic effects of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 353, pt. A, p. 120313, 2025.
- ARMSTRONG, L. *et al.* *Baccharis dracunculifolia* DC. A review of research advances from 2004 to 2024, with new micromorphology and essential oil investigations. **Journal of Herbal Medicine**, v. 48, p. 100952, 1 dez. 2024.
- ANVISA. **Anvisa criará documento para orientar prescrição de fitoterápicos no Brasil**. Pfarma, Rio de Janeiro, 16 jun. 2016. Legislação Farmacêutica. Disponível em: <<https://pfarma.com.br/noticia-setor-farmaceutico/legislacao-farmaceutica/2507-anvisa-criara-documento-para-orientar-prescricao-de-fitoterapicos-no-brasil.html>>. Acesso em: 19 set. 2024.
- ANVISA. **Instrução Normativa ANVISA Nº 410, De 17 De Dezembro De 2025 - DOU - Imprensa Nacional**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-anvisa-n-410-de-17-de-dezembro-de-2025-676922421>>. Acesso em: 16 mar. 2026.
- ANTUNES, K. A. *et al.* Authentication and Quality Control of the Brazilian Traditional Herb “Espinheira-Santa” (*Monteverdia ilicifolia*) by Morpho-Anatomy and Microscopy. **Microscopy and Microanalysis**, v. 29, n. 5, p. 1809–1821, 1 out. 2023a.
- ANTUNES, K. A. *et al.* Comprehensive High-Performance Thin-Layer Chromatography Analysis of *Monteverdia ilicifolia* Leaf and Its Adulterants. **Natural Product Research**, v. 39, n. 8, 2023b.
- ANTUNES, K. A. *et al.* Comparative Anatomy of *Ilex paraguariensis* “Erva-Mate” and its Adulterant *Citronella gongonha* “Falso-Mate”. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, e23230040, 2023c.
- ANTUNES, K. A. *et al.* Authentication and quality control of the Brazilian traditional herb “carquejas” (*Baccharis* species) using morpho-anatomy and microscopy. **Plants**, v. 13, n. 21, p. 3030, 2024.
- ARGENTINA. **Farmacopeia Argentina. Libro tercero**. Buenos Aires: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), 2003. Disponível em: https://fitoterapiabrasil.com.br/sites/default/files/documentos-oficiais/libro_tercero.pdf. Acesso em: 02 mar. 2026.

BALIYAN, S. *et al.* Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1326, 2022.

BARBOSA, V. *et al.* Antioxidant activity and determination of phenolic compounds, total flavonoids and hispidulin in *Baccharis erioclada* DC. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, p. e23220459, 2023.

BARBOZA, G. E. *et al.* *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. **Em: Atlas Histomorfológico de Plantas de Interés Medicinal**; Museo Botánico Córdoba: Córdoba, Spain, 2001; pp. 32–35.

BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P.; SASS, J. E. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1976.

BOBEK, V. B. *et al.* Comparative analytical micrographs of “vassouras” (*Baccharis*, Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 6, p. 665–672, nov. 2016.

BOCHNER, R. *et al.* Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 537–547, 2012.

BOTTO, J. M. *et al.* Exhaustive Analytical Profiling of Phytocompounds in Botanical Active Ingredients: Fighting the Global Prevalence of Adulterated Botanical Ingredients for Cosmetics. **Cosmetics**, v. 12, p. 63, 31 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS – Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – (ANVISA). Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de jul. de 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 7. ed. Volume I. Versão RDC nº 940/2024. Brasília: Anvisa, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saps/pics/pics>>. Acesso em: 2 fev. 2025.

BONIN, E. *et al.* *Baccharis dracunculifolia*: chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 112, p. 108920, 2019.

BUDEL, J.M.; DUARTE, M.D.R. Análise morfoanatômica comparativa de duas espécies de carqueja: *Baccharis microcephala* DC. e *B. trimera* (Less.) DC., Asteraceae. **Braz. J. Pharm. Sci.** 2009, 45, 75–85.

BUDEL, J.M.; DUARTE, M.D.R. Macro and microscopic characters of the aerial vegetative organs of Carqueja: *Baccharis usterii* Heering. **Braz. Arch. Biol. Technol.** 2010, 53, 123–131.

BUDEL, J. M. *et al.* Composition of essential oils and secretory structures of *Baccharis anomala*, *B. megapotamica* and *B. ochracea*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 1, p. 19–24, 1 fev. 2012.

BUDEL, J. M. *et al.* Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). **Microscopy Research and Technique**, v. 81, n. 8, p. 832–842, ago. 2018a.

BUDEL, J. M. *et al.* Essential Oils of Five *Baccharis* Species: Investigations on the Chemical Composition and Biological Activities. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2620, 12 out. 2018b.

CAIN, A. J. The use of Nile blue in the examination of lipids. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 88, 383–392, 1947.

CAMAG. **TLC/HPTLC Process Steps**, Muttentz, 2026. Disponível em: <<https://www.camag.com/process-steps/application>> Acesso em: 16 mar. 2026.

CAMPOS, R. F. *et al.* *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 1, p. 1–17, jan. 2016.

CARNEIRO, V. P. P. *et al.* Perfil do uso de plantas medicinais por moradores da área rural de um Município do Estado do Paraná. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e5099108710–e5099108710, 6 out. 2020.

CHOI, U.-K. *et al.* Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Root and Leaf on Cholesterol-Fed Rabbits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 1, p. 67–78, 6 jan. 2010.

CILIA-LÓPEZ, V. G.; CARIÑO-CORTÉS, R.; ZURITA-SALINAS, L. R. Ethnopharmacology of the Asteraceae family in Mexico La etnofarmacología de la familia Asteraceae en México. **Botanical Sciences**, 2021.

COMPOSITAE. **Compositae**. 2025. Disponível em: <https://www.compositae.org/gcd/aphia.php?p=taxdetails&id=867905#notes>. Acesso em: 02 mai. 2026.

DAVID, R.; CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime aumoyen du reactif Nadi. **C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.**, 258, 1338–1340, 1964.

DE ZEEUW, Richard A.; FRANKE, Jan Pieter; MAURER, Hans H. Impact of tropical conditions on thin-layer chromatography in analytical toxicology. **Journal of**

Chromatography B: Biomedical Applications, Amsterdam, v. 580, n. 1-2, p. 135-143, 1992.

DO, T. K. T. *et al.* Development of the first universal mixture for use in system suitability tests for high-performance thin layer chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1638, 461830, 2021.

EL ZEIN, A.K. *et al.* Identification of *Monteverdia ilicifolia* by fourier-transform mid-infrared spectroscopy associated with chemometrics and machine learning. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 263, p. 105420, 15 ago. 2025.

EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES. **European Pharmacopoeia**. 11. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2023.

FERNANDES, G. W.; OKI, Y.; BARBOSA, M. *Baccharis: from evolutionary and ecological aspects to social uses and medicinal applications*. **Cham: Springer**, 2022. DOI: 10.1007/978-3-030-83511-8.

FERNANDES, J. M. *et al.* Flavonoids as markers in herbal medicine quality control: current trends and analytical perspective. **Separations**, v. 12, p. 289, 2025.

FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie. Histochemistry. Histochimie**, v. 16, n. 1, p. 92–96, 1968.

FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. Princeton, N.J.; New York: Van Nostrand, 1949.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. CALCIUM OXALATE IN PLANTS: Formation and Function. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, n. 1, p. 41–71, 1 jun. 2005.

FREIRE, S.E.; URTUBEY, E.; GIULIANO, D.A. Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. **Caldasia** 2007, 29, 23–38.

FUCHS, C. Fuchsin staining with naoh clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. **Stain Technology**, v. 38, n. 3, p. 141-144, 1963.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Nat. Prod.**, 44,153–159, 1981.

GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson, 1968.

GARDNER, R. O. Vanillin-Hydrochloric acid as a histochemical test for tannin. **Stain Technol.** 50: 315-317. 1975.

GASPARETTO, J.C. *et al.* Estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 20, 627– 640. 2010.

GREGORY, M.; BAAS, P. A Survey of Mucilage Cells in Vegetative Organs of the Dicotyledons. **Israel Journal of Botany**, v. 38, n. 2–3, p. 125–174, 1 jan. 1989.

HE, H. *et al.* Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia robeorum* (Leguminosae: Mimosoideae). **Annals of Botany**, v. 109, n. 5, p. 887–896, abr. 2012.

HEIDEN, G.; ANTONELLI, A.; PIRANI, J. R. A novel phylogenetic infrageneric classification of *Baccharis* (Asteraceae: *Astereae*), a highly diversified American genus. **TAXON**, v. 68, n. 5, p. 1048–1081, 2019.

HEIDEN, G.; BONIFACINO, J. M. *Baccharis* L. (Astereae): from Nova Scotia to Cape Horn. *Capitulum*, v. 1, n. 1, p. 12–35, 2021. DOI: 10.53875/capitulum.01.1.02.

HEIDEN, G. *Baccharis* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB5151>>. Acesso em: 16 mar. 2026.

HIGA, K. C. *et al.* CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS GLICÓLICOS DE *Cynara scolymus* (ALCACHOFRA), *Myracrodruon urundeuva* (AROEIRA-DO-SERTÃO) E *Camellia sinensis* (CHÁ VERDE). **Revista Univap**, v. 25, n. 48, p. 77–91, 6 dez. 2019.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE (ICH). **ICH Q2(R2): Validation of Analytical Procedures**. Geneva, 2023.

ISLAM, M. K. *et al.* Antioxidant HPTLC-DPPH fingerprinting of honeys and tracking of antioxidant constituents upon thermal exposure. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 357, 2021.

JAYABALAN, M.; SHAH, J. J. Histochemical techniques to localize rubber in guayule (*Parthenium argentatum* Gray). **Stain. Technol.**, 61, 303-308, 1986.

JASINSKI, V. C. G. *et al.* Morpho-anatomical characteristics of *Baccharis glaziovii* in support of its pharmacobotany. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 609–616, 1 nov. 2014.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**; McGraw Hill Book: New York, NY, USA, 1940; p. 41.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos; 123p., 1983.

KIM, N.C. Need for Pharmacopeial Quality Standards for Botanical Dietary Supplements and Herbal Medicines. **Health Supplements and Botanical Health**, v. 1, n. 1, e10, 2021.

KLIDER, L. M. *et al.* Pharmacological mechanisms involved in the diuretic activity of the ethanol-soluble fraction of *Baccharis milleflora* (Less.) DC. - An ethnopharmacological investigation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 335, p. 118629, 5 dez. 2024.

KLIDER, L.M. *et al.* Molecular Mechanisms Involved in the Diuretic Effects of the Ethanol-soluble Fraction Obtained from the Aqueous Extract of the Aerial Parts of *Commelina benghalensis*: An Ethnopharmacological Approach. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 36, n. 1, p. 8, 16 dez. 2025.

KLIDER, L. M. *et al.* Involvement of the NO-cGMP-K Channels Pathway in Cardioprotective Effects of *Baccharis milleflora* in Hypertensive Rats. **Planta Medica**, Stuttgart, 2026.

KOLL, K. *et al.* Validation of standardized high-performance thin-layer chromatographic methods for quality control and stability testing of herbals. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 5, p. 909–915, 2003.

KRÜGER, S.; URMANN, O.; MORLOCK, G. E. Development of a planar chromatographic method for quantitation of anthocyanes in pomace, feed, juice and wine. **Journal of Chromatography. A**, v. 1289, p. 105–118, 10 maio 2013.

LAGO, J.H.G. *et al.* Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 9, p. 737–740, 2008.

LINDENMAIER, M. P.; BERNART, M. W.; BRINCKMANN, J. A. Advanced methodologies for the quality control of herbal supplements and regulatory considerations. **Phytochemical Analysis**, 2025.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Can. J. Bot.**, 52, 2423–2426, 1974.

MACHADO, C. D. *et al.* *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 1–10, fev. 2019.

MACHADO, C. D. *et al.* Ethnopharmacological investigations of the leaves of *Cecropia pachystachya* Trécul (Urticaceae): A native Brazilian tree species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 270, p. 113740, 24 abr. 2021.

MANFRON, J. Farmacobotânica: uma ferramenta importante para a detecção de adulterações em matérias-primas vegetais. In: BARATTO, Leopoldo C. **A Farmacognosia no Brasil: memórias da sociedade brasileira de farmacognosia**. Petrópolis, RJ: Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Cap. 12. p. 259–276, 2021.

MANFRON, J. *et al.* Morpho-Anatomical Characteristics of Species of *Baccharis*. In *Baccharis*, from Evolutionary and Ecological Aspects to Social Uses and Medicinal Applications; **Springer**: Cham, Switzerland, 2022. pp. 217–237.

MARTÍNEZ, M.L. *et al.* Multivariate statistical analysis of morpho-anatomical data of nine sect. *Caulopterae* species (*Baccharis*—Asteraceae) used in folk medicine. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2018, 28, 402–413.

MINTEGUIAGA, M. *et al.* Morphoanatomy and essential oil analysis of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) from Uruguay. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 488–498, fev. 2018.

MINTEGUIAGA, M. Fitoquímica de *Baccharis* spp. (Asteraceae): metabolitos secundarios, semi-síntesis y bioactividad. **Tese (Doutorado) – Universidad de la República**, Montevideo, 2019.

MÜLLER, J. Systematics of *Baccharis* (Compositae-Astereae) in Bolivia, including an Overview of the Genus. **Systematic Botany Monographs**, v. 76, p. 1–341, 1 jan. 2006.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368–373, 1 jun. 1964.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods. **Termarcaphi Pty. Ltd.**, Melbourne, Australia, 1981.

OLIVEIRA, C. B. D. *et al.* Phenolic enriched extract of *Baccharis trimera* presents anti-inflammatory and antioxidant activities. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 1113–1123, 2012.

ORNELLAS, T. *et al.* Comparative leaf anatomy of *Baccharis* (Asteraceae) from high-altitude grasslands in Brazil: taxonomic and ecological implications. **Botany**, v. 97, n. 11, p. 615–626, nov. 2019.

PEARSE, A. G. E. Histochemistry: Theoretical and Applied, 3rd ed.; **The Williams & Wilkins Company**: Baltimore, MD, USA, 1972.

PEREIRA, C. *et al.* New Contribution to the Pharmacognostic Study of Carquejas: *Baccharis milleflora* DC., Asteraceae. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 33, 841–847, 2014.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 227–229, 2002.

PETENATTI, E. *et al.* Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. VI. Caracterización y Control de Calidad de dos Especies de “Carquejas”: *Baccharis sagittalis* y *B. triangularis* (Asteraceae). **Latin American Journal Of Pharmacy**, v. 26, p. 201–208, 1 jan. 2007.

POWO, **Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew.** Disponível em: <<http://www.plantsoftheworldonline.org/>>. Acesso em: 16 mar. 2026.

QU, L. *et al.* Non-European traditional herbal medicines in Europe: A community herbal monograph perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 158, p. 34–42, 2014.

RABELO, S. A. C.; COSTA, C. D. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 296, p. 65–75, dez. 2018.

RAESKI, P. A. *et al.* Applications of Calcium Oxalate Crystal Microscopy in the Characterization of *Baccharis articulata*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, n. spe, p. e23230078, 2023.

RAESKI, P. A. *et al.* Calcium oxalate crystal macropattern and its usefulness in the taxonomy of *Baccharis* (Asteraceae). **Microscopy Research and Technique**, v. 86, n. 7, p. 862–881, 2023.

RAMAN, V. *et al.* Microscopic characterization and HPTLC of the leaves, stems and roots of *Fadogia agrestis* – an African folk medicinal plant. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 631–639, dez. 2018.

REFLORA, *Asteraceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB55>>. Acesso em: 16 mar. 2026.

REICH, E.; SCHIBLI, A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. Stuttgart: **Georg Thieme Verlag**, 2007.

RETAMOZO, M. H. *et al.* Chemical constituents from leaves of *Baccharis sphenophylla* (Asteraceae) and their antioxidant effects. **Plants**, v. 12, n. 6, p. 1262, 2023.

RODRIGUEZ, M.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M. *Baccharis crispa* and *Baccharis trimera* (Asteraceae): A review and new contributions for their micrographic normalization. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, p. 387–397, 1 maio 2008.

RODRIGUEZ, M.V.; GATTUSO, S.J.; GATTUSO, M.A. Micrographic standardization of *Baccharis* L. species (Asteraceae). **Dominguezia**, v. 29, 39–54, 2013.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 33-36, 1972.

SANTOS, R. A. M. DOS; MARTINS, K. M. Controle de qualidade das drogas vegetais *Matricaria recutita* L., *Peumus boldus* M. E *Pimpinella anisum* L., comercializadas nas farmácias de Maringá-PR. **BIOFARM - Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, n. 4, p. 466–483, 20 jul. 2023.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: Iowa State College, 1951.

SHAHANE, K. *et al.* An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 4, p. 611, 18 abr. 2023.

SHERMA, Joseph; FRIED, Bernard. **Handbook of thin-layer chromatography**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 2003.

SILVA, L. M. D. *et al.* *Calendula officinalis* L. inflorescences extract: in vivo evaluation of its gastric ulcer healing potential: Extrato de inflorescências de *Calendula officinalis* L.: avaliação in vivo do seu potencial como cicatrizante de úlcera gástrica. **Biomedical and Biopharmaceutical Research Journal**, v. 17, n. 1, p. 1–15, maio 2020.

SIMÕES-PIRES, C. A. *et al.* Assay of caffeoylquinic acids in *Baccharis trimera* by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8485–8490, 2011.

SVENDSEN, A. B.; VERPOORTE, R. Chromatography of Alkaloids; **Elsevier Scientific Publishing Company**: New York, NY, USA, 1983.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **United States Pharmacopeia and National Formulary (USP-NF)**. Rockville: USP Convention, 2024.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519–528, jun. 2005.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine-Ponceau 2R. **Ann. Histochem.**, 15, 289–296, 1970.

YUNES R.A.; PEDROSA R.C.; CECHINEL F.V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, 24(1):147-152, 2001.

WFO, **PLANT LIST**. Disponível em: <<https://wfo-plantlist.org/taxon/wfo-7000000146-2022-12?page=1>>. Acesso em: 16 mar. 2026.

ZANLORENZI, L. P. *et al.* Leaf Epidermal Features for Differentiating *Cecropia pachystachya* Trécul from its Adulterant *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K. Koch. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, n. spe, p. e23230317, 2023.

ZUCCOLOTTO, T. *et al.* Chemical, Antioxidant, and Antimicrobial Evaluation of Essential Oils and an Anatomical Study of the Aerial Parts from *Baccharis* Species (Asteraceae). **Chemical Biodiversity**, 16, e1800547, 2019.