UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional
Tecnologia em Química e Bioquímica

CATARINE HERNANDES FORTES MEIRA

Análise da composição do óleo essencial de *Croton tricolor* como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria

Versão Corrigida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
21/11/2018

CATARINE HERNANDES FORTES MEIRA

Análise da composição do óleo essencial de *Croton tricolor* como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências, Área de Concentração Tecnologia em Química e Bioquímica

Orientador: Prof. Dr. Paulo Moreno

São Paulo
2018

Dedicatórias

Dedico esta dissertação a toda minha família, que sempre me incentivou e acreditou no meu esforço!

“Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque no além para onde tu vais, não há obra, nem projeto, nem conhecimento, nem sabedoria alguma.”

(Eclesiastes 9:10)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e salvador Jesus Cristo por sempre me mostrar o caminho para alcançar meus objetivos.

Ao meu amado esposo, Douglas Meira, que sempre apoiou os meus projetos.

Ao meu querido filho, Felipe Hernandez Meira, por ser minha motivação diária.

Aos meus pais e minha família pelo amor e dedicação incondicional.

À IFF e toda diretoria da empresa, em especial ao Sr. João de Paula Neto, e ao Sr. José Oscar Figueroa, por todo incentivo e oportunidade de poder exercer este trabalho.

Ao perfumista Sr. Antonio Amador, pela ajuda na escolha olfativa do material estudado.

Ao Prof. Dr. Paulo Moreno por acreditar em mim e no nosso trabalho.

Ao Programa de Mestrado Profissional em Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP), pela oportunidade de cursar o mestrado.

RESUMO

Meira, CHF **Análise da composição do óleo essencial de *Croton tricolor* como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria.** 2018. 49p. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Química e Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O uso de óleos essenciais na indústria de fragrância tem crescido a cada ano. A indústria de cosméticos, em geral, tem buscado este tipo de ingrediente com o objetivo de agregar atributos únicos e melhores aos seus produtos e assim entregar, ao consumidor final, diferenciais que poderão valorizar suas formulações, além de simplesmente perfumar. O benefício de usar óleos naturais ou acordes de seus principais componentes em formulações de fragrâncias é que estes se tornam composições mais ricas, e em muitos casos, capazes de proporcionar perfumação prolongada ao produto, quando comparados àqueles sintetizados. A presença de compostos variados nos óleos, como terpenos e resinas, ajudam a promover singularidades à fragrância e até mesmo servem como inspiração às criações de produtos com descrições olfativas de produtos naturais.

Croton tricolor (Euphorbiaceae), segundo avaliação inicial de um perfumista, apresentou excelentes características olfativas, o que facilitou seu uso nos estudos. A análise do óleo essencial de *C. tricolor* por cromatografia à gás com detector de ionização de chamas (CG/DIC) e cromatografia à gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) permitiu quantificar e identificar seus principais marcadores, bem como utilizar estas informações para construção de acorde olfativo, reproduzindo o odor do produto natural.

O óleo essencial de *C. tricolor* apresentou como principais componentes o biciclogermacreno (15,4%), espatulenol (10,5%) e o alfa-pineno (6,8%). A partir destes dados foi construído um acorde aromático que reproduziu o odor original, contendo alfa-pineno (7%), álcool fenetílico (5%), óleo de cedro (5%), óleo de laranja (0,5%), limoneno (1%), eucaliptol (0,5%) e nerolidol (0,3%). Os compostos majoritários, biciclogermacreno e espatulenol, não foram adicionados por não serem disponíveis comercialmente, por isso, usaram-se outras matérias-primas semelhantes em perfil olfativo e ofertadas no mercado, como foi o caso do uso de álcool fenetílico, óleo de cedro e óleo de laranja na criação do acorde. Os

resultados evidenciaram que a criação de acordes é um método economicamente viável para a reprodução de odores naturais que podem ser utilizados em formulações de fragrâncias, além de ajudar a resolver problemas na produção e comercialização de óleos essenciais como, sazonalidade e reprodutibilidade.

Palavras-chave: acordes olfativos, óleos essenciais, cromatografia à gás.

ABSTRACT

Meira, CHF **Analysis of the *Croton tricolor* essential oil composition as a model in the creation of fragrance accords for the perfumery industry**. 2018. 49p. Professional Master Thesis - Graduate Program Technology in Chemistry and Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The use of essential oils in the fragrance industry has grown every year. The cosmetics industry has generally sought this type of ingredient, with the aim of providing its products with differentiated benefits (unique and better attributes), and thus delivering to the final consumer a differential that can enhance their formulations, besides simply perfuming their products (theirs). The benefit of using natural oils or accords of their major components in fragrance formulations makes them richer, and in many cases capable of providing prolonged perfuming to the final product when compared to synthesized products. The presence of varied compounds in the oils, such as terpenes or (and) resins, helps to promote differentiated fragrance characteristics (singularities/peculiarities to the fragrance), or (and) even to serve as inspiration for product creations with olfactory descriptions of natural products.

Croton tricolor (Euphorbiaceae), accordingly to an initial evaluation of a perfumer, presented excellent olfactory characteristics, which facilitated its use in the studies. The analysis of the *C. tricolor* essential oil by gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) allowed to quantify and identify their main markers, as well as to use this information to construct an olfactory accord that reproduces the odor of natural products.

The *C. tricolor* essential oil had as main components bicyclogermacrene (15.4%), spathulenol (10.5%) and alpha pinene (6.8%). From these data, an aromatic accord was created reproducing the original odor containing alpha pinene (7%), phenethyl alcohol (5%), cedar oil (5%), orange oil (0.5%), limonene (1%), eucalyptol (0.5%) and nerolidol (0.3%). Some of the major compounds, bicyclogermacrene and spatulenol, could not be added because they were not commercially available. In these cases (therefore), other products (raw materials)

with similar olfactory characteristics (olfactory profile) and commercially viable (offered on the market) were used, such as the use of phenethyl alcohol, cedar oil and orange oil in the accord creation. The results showed that accord creation is an economically viable method for the reproduction of natural odors that can be used in fragrance formulations and may help to solve problems that exist in the production and commercialization of essential oils such as production seasonality and reproducibility.

Keywords: olfactive accords, essential oil, gas chromatograph

Lista de Abreviaturas

CG – Cromatografia à Gás

DIC – Detector de Ionização de Chamas

EM – Espectrômetro de Massas

ISO – *International Organization for Standardization*

SPME – *Solid Phase Micro Extraction*

CGL – Cromatografia Gás Líquido

NEC – Número Efetivo de Carbonos

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

OVC – *Olfactive Value Contribution*

LMS – *Labeled Magnitude Scale*

DPG – Dipropileno Glicol

Lista de Tabelas

TABELA 1 - Vegetação de ocorrência das espécies de <i>Croton</i> de São Paulo	26
TABELA 2 - Fator de resposta de compostos orgânicos	31
TABELA 3 - Relação de índice de ésteres	32
TABELA 4 - Identificação dos componentes presentes no óleo essencial de <i>Croton tricolor</i>	34
TABELA 5 - Formulação do acorde de <i>Croton tricolor</i>	39
TABELA 6 - Características físico-químicas e olfativas dos compostos do acorde de <i>Croton tricolor</i>	41

Lista de Figuras

FIGURA 1. Esquema da Pirâmide Olfativa	20
FIGURA 2. Exemplo de matérias primas utilizadas na perfumaria	20
FIGURA 3. Imagem da espécie de <i>C. tricolor</i>	23
FIGURA 4 Esquema do aparelho de Clevenger	29
FIGURA 5. Cromatógrafo a gás modelo Agilent - 6890N/MSD5975	30
FIGURA 6. Comparativo do Cromatograma (DIC) versus Espectrograma (EM), amostra de <i>Croton tricolor</i>	32
FIGURA 7. Espectro de massas do ingrediente biciclogermacreno	37
FIGURA 8. Espectro de massas do ingrediente espatulenol	37
FIGURA 9. Espectro de massas do ingrediente alfa-pineno	37
FIGURA 10. Sobreposição dos picos do limoneno e eucaliptol	38
FIGURA 11. Gráfico comparativo OVC versus quantidade de ingrediente na formulação do acorde de <i>Croton tricolor</i>	42
FIGURA 12. Escala LMS	43
FIGURA 13. Gráfico de limite de percepção dos compostos do acorde em estudo	43
FIGURA 14. Plotagem dos ingredientes em relação ao limite de percepção	44
FIGURA 15. Formação de hemiacetal	45
FIGURA 16. Mecanismo de reação para a formação de hemiacetal	45
FIGURA 17. Pirâmide olfativa do acorde do óleo essencial de <i>Croton tricolor</i>	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 A história da perfumaria	14
1.2 Utilização de óleos essenciais na indústria de fragrâncias	16
1.3 Acordes Olfativos	19
1.4 Avaliação e Famílias Olfativas	21
1.5 A família Euphorbiaceae	22
2 OBJETIVO	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 Materiais	29
3.1.1 Material Vegetal	29
3.1.2 Reagentes	29
3.2 Métodos	29
3.2.1 Obtenção do Óleo Volátil	29
3.2.2 Injeção da amostra	30
3.2.3 Quantificação dos Compostos	30
3.2.4 Caracterização de voláteis	31
3.2.5 Análise do comportamento olfativo do acorde	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Caracterização do <i>Croton tricolor</i> (Euphorbiaceae)	34
4.2 Criação do acorde olfativo de <i>Croton tricolor</i> (Euphorbiaceae)	38
4.3 Características Olfativas do acorde de <i>Croton tricolor</i> (Euphorbiaceae) .	40
5 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

1.1 A história da perfumaria

Desde a antiguidade já se ouvia falar em fragrâncias. A primeira fórmula conhecida de um perfume é citada na Bíblia, onde Moisés recebe a incumbência de fazer um incenso perfumado, misturando partes iguais das especiarias. Mirra, Acácia, Canela, Óleo de Cálamo aromático: “*E disto fará incenso, um perfume segundo a arte do perfumista, temperado, puro e santo*” (Bíblia, Êxodo 30:35). A lenda da Fênix, ave mitológica que renasce das cinzas após atear fogo ao seu ninho construído com plantas e ervas aromáticas, também é considerada uma ilustração perfeita para a importância dos odores. A Grécia teve uma grande participação na difusão do costume de usar perfumes, pois seus cidadãos tinham o hábito de usar uma fragrância em cada parte do corpo, sendo esse hábito estendido até Roma.

Em meados do século XVIII Jean-Marie Farina, em cidade Colônia (Alemanha), produziu a primeira água de colônia, *Eau de Cologne*, chamada Jean Maria Farina *acqua mirabilis*, uma mistura adstringente de óleos de frutas cítricas com álcool. Mais tarde em 1801, a filha de Williams Yardley fundou a “House of Yardley” onde criou a famosa “Lavanda Yardley”. O ano de 1828 é considerado como o início da perfumaria de fato com a fundação da “Perfumes Guerlain” por Pierre François Pascal Guerlain. Este que em 1853, cria o sucesso *Eau de Cologne Impériale* para o Imperador Francês Napoleão III e sua esposa, Imperatriz Eugénie, o qual é vendido até os dias de hoje.

Com a era industrial, a indústria de perfumaria começa a se fortalecer e se firma dentro do setor. Por volta de 1830, o processo de destilação à vapor passa a ser largamente utilizado para a obtenção dos óleos essenciais de origem natural, empregados na composição dos perfumes. Um dos primeiros a explorar a combinação de notas sintéticas e naturais foi François Coty, o qual também foi precursor em reconhecer a importância do “design” dos frascos, com o lançamento em 1905 do perfume *L’Origan*, uma fragrância que combina notas sintéticas de violeta (metil iononas) com íris e violeta, materiais naturais.

O ícone da perfumaria moderna surge em 1921, o *Chanel N.5*, considerado uma das fragrâncias mais vendidas do mundo até os dias de hoje. Em 1948 surgem as fragrâncias que remetem a expressão do termo “Glamour”, o perfume *L’air du temps* (Nina Ricci), destaca a explosão de misturas de notas florais em fragrâncias,

neste caso, de rosas e íris. Em 1950, a modernidade na perfumaria do pós-guerra traz uma ousadia nas fragrâncias, sendo o retrato desta época o “*Intimate*” (Revlon), o qual mantém a presença das notas florais (rosa e jasmim) com a adição de notas de âmbar, um toque oriental.

Com o passar dos anos, a indústria da perfumaria foi sendo afetada pelas revoluções sociais. Nos anos 1960, surge fortemente a exploração das notas cítricas, tendo como o ícone “*Calandre*” (Paco Rabanne), sendo fragrâncias que suscitam ao movimento libertário dessa época, iniciando mais uma evolução olfativa. O Hedonismo da década de 1970, também tem sua representação na perfumaria. Nasce na Casa Chanel a fragrância *Chanel n.19*, que promove a inserção de ingredientes verdes e amadeirados nas formulações. Nos anos 80, as notas olfativas começam a se tornar um pouco mais ousadas e surge assim a fragrância *Obsession* (Calvin Klein), onde os perfumistas começam a explorar a mistura da nota de sândalo em fragrâncias. (Calkin, Jellinek, 1996)

Por fim, na virada para o século XXI, a perfumaria começa a dar destaque à sensualidade, surgindo fragrâncias com notas frutais que exploram este universo. O perfume *Be Delicious* (DKNY), representa o início desta fase, usando notas de pepino, magnólia, rosas e maçã verde com toques de âmbar e sândalo.

Embora tenha emergido na França no século XVIII, a indústria do perfume só chegou ao Brasil no século XX. Ainda que o hábito de se perfumar tenha vindo ao país com a corte portuguesa em 1808, ao fugir dos exércitos de Napoleão, os relatos mais antigos do uso de odorantes remetem às defumações, isto é, a fumaça resultante da queima de especiarias, óleos essenciais e ervas. E o seu emprego transmitia valor e importância ao usuário, pois eram destinados a personagens qualificados, como reis ou pessoas renomadas. (ASHCAR, 2001).

A história da perfumaria sempre foi marcada por mudanças evolutivas nas notas das fragrâncias. Normalmente os perfumistas estudam os perfumes que admiram e então, criam versões baseados nestas referências, substituindo alguns ingredientes por moléculas novas, estas que por sua vez, trazem modernidade ao novo perfume em questão.

Com tudo, percebe-se que desde o nascimento do clássico da perfumaria moderna, *Chanel n.5* (1921), até as criações atuais, houve muitas evoluções e a exploração de outras misturas de notas olfativas não convencionais. Deste modo, a perfumaria segue seu avanço juntamente com progresso da sociedade.

1.2. Utilização de óleos essenciais na indústria de fragrâncias

Os óleos essenciais compreendem a fração volátil, obtida pela destilação com arraste à vapor, responsável pelo odor característico da planta de origem. (Harbone, 1984). De acordo com a ISO 9235 (2.11), é o produto obtido a partir das matérias-primas naturais de uma planta por destilação à vapor, por processos mecânicos, no caso de frutas cítricas ou por destilação seca, após separação da fase aquosa. Também podem ser definidos como misturas de substâncias orgânicas voláteis de viscosidade semelhante à dos óleos, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, sendo obtidos por destilação à vapor e hidrodestilação.

A destilação é uma das técnicas utilizada para separar diferentes componentes de materiais naturais como plantas ou flores, baseados em diferença de volatilidade, ou seja, equilíbrio líquido-vapor. A destilação à vapor permite que materiais que possuem ponto de ebulição mais altos que a água sejam arrastados, onde misturas imiscíveis não se comportam como soluções, mantendo suas pressões de vapor constantes, como se estivessem puros no sistema. Assim, seguindo a lei de Dalton, onde a pressão total de vapor do sistema é a soma das pressões de vapor de cada substância pura, elas evaporam a temperaturas menores do que se estivessem sozinhas, pois a pressão de vapor da mistura será sempre mais alta que a de seus constituintes puros. Por isso, uma mistura de um composto de alto ponto de ebulição e água poderá ser destilada à temperatura menor que 100°C a 760 mmHg considerando que o ponto de ebulição de uma mistura de dois componentes imiscíveis difere daquele observado para líquidos miscíveis.

Durante o processo de destilação, a água é aquecida separadamente e o vapor produzido é transferido sob pressão ao local onde se encontra o material vegetal. O calor deste vapor faz com que as paredes celulares dos materiais se abram e então o óleo essencial evapore. Sendo estes menos densos, seus componentes ficam sobre a água, de modo a não se misturar, já que são líquidos imiscíveis. Na sequência, são direcionados ao tubo de condensação, por meio do qual ocorre a separação das fases.

A hidrodestilação é similar à destilação a vapor, onde ambas possuem o mesmo princípio, arraste do óleo essencial através do vapor, no entanto, se diferenciam pela forma de como a biomassa é acondicionada no sistema de extração. Na

hidrodestilação do tipo Clevenger, por exemplo, o material vegetal é imerso em água sob aquecimento, até a fervura, resultando na formação de vapores que arrastam os compostos voláteis, os quais, após condensação, separam-se da fase aquosa por decantação (PAIVA et al., 2012). Parte de água retorna ao ciclo e parte é direcionada para o coletor, por fim, ocorre a separação da água e do óleo pela diferença de densidade destes.

Na perfumaria outras técnicas de extrações são utilizadas para obtenção de ingredientes naturais aromáticos: enfleurage, extração por solvente, CO₂ supercrítico ou por pressão. Os constituintes dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos contendo enxofre. Os óleos essenciais encontram-se, principalmente, nas folhas e flores, em estruturas especializadas como os tricomas glandulares e bolsas secretoras. Em sua maioria possuem cheiro ou aroma agradável. Nem sempre é válido supor que uma planta aromática é simplesmente aquela que gera um odor e um sabor particular, seja este agradável ou não. Às vezes a planta pode não apresentá-lo em condições naturais, mas somente após processos químicos, físicos ou biológicos. O camazuleno, por exemplo, é obtido por extração a quente das sumidades floridas da camomila (*Matricaria recutita* – Asteraceae), por oxidação do precursor natural, a matricina (DEWICK, 1997).

Na indústria de fragrâncias os óleos essenciais são muito utilizados em formulações, principalmente em misturas com moléculas sintéticas. Os óleos essenciais cítricos, tais como: óleo de laranja, bergamota, limão, lima e mandarin, são considerados os mais baratos para a indústria. Portanto, tornam-se os utilizados em maior quantidade nas formulações de fragrâncias para perfumaria fina, como também, produtos para tratamento de pele, cabelo e cuidados da casa, quando possuem esta nota em evidência.

O uso de alguns óleos essenciais em uma formulação promove valor à fragrância. Assim sendo, tornam-se mais empregados em produtos de perfumaria fina. Esta forma de entendimento é importante, principalmente em relação aos óleos essenciais extraídos das flores, devido ao seu elevado custo. Exemplificando, para produzir um quilo de óleo essencial de jasmim, é necessário aproximadamente 6 milhões de flores (400 kg). Em um frasco de perfume, de 150 mL, que contenha em sua formulação, a aplicação de 15% do óleo de fragrância diluído em base hidro alcoólica, na qual o perfumista utiliza 1/1000 de óleo essencial de Jasmim, contém

aproximadamente 135 flores. Normalmente na perfumaria, o óleo de Jasmim provém de países do Oriente Médio e/ou África (Egito, Índia, Marrocos), e apresenta um custo aproximado entre dois mil à cinco mil dólares o valor do quilo. Quando é comparado ao acorde sintético, o óleo essencial pode custar mais de 1000% mais caro que a reconstituição sintética.

Embora óleos essenciais de flores, como jasmim, rosa, violeta, íris, entre outras, sejam utilizados em menor quantidade, sua adição nas formulações gera considerável destaque olfativo à fragrância. Óleos essenciais de pimentas e madeiras também possuem importante papel para a perfumaria. Tal como dito previamente, uma formulação de fragrância é uma mistura de ingredientes naturais, referente aos óleos essenciais, e moléculas sintéticas. Geralmente, uma formulação possui em torno de 70-150 ingredientes, sendo a representatividade de naturais em torno de 0.1-20% da fórmula, dependendo do produto a qual se destina.

Na tentativa de reconstituir a estrutura de um óleo essencial, ou seja, com o objetivo de reproduzir sua característica olfativa, utilizam-se os resultados da análise cromatográfica do óleo original. Através da técnica de cromatografia à gás acoplada ao espectômetro de massas, é possível identificar e quantificar os compostos primordiais que caracterizam as notas do óleo essencial. O óleo essencial de jasmim, por exemplo, apresenta como principais componentes: 25% de acetato de benzila, 10% benzoato de benzila e 2% de indol. Com o auxílio destas informações, a nota olfativa do óleo de jasmim pode ser reconstituída e manuseada em criações de fragrâncias que impossibilita o uso do óleo original devido ao custo do material natural, isto é, fragrâncias comumente destinadas a produtos de limpeza doméstica, amaciantes, desinfetantes e outros que buscam a nota do jasmim, porém não exigem a presença do óleo essencial, ao contrário do que ocorre muitas vezes na perfumaria fina. Nestes casos, é possível obter o acorde sintético, com valores aproximadamente mil vezes mais barato.

Bem como já dito, o óleo essencial confere à fragrância destaque olfativo e por vezes também propicia o prolongamento da mesma no substrato aplicado, tal como na pele, devido a presença de resinas, ácidos graxos ou outros componentes não voláteis de maior massa molecular, normalmente encontrados em óleos essenciais e que não são vistos em acordes sintéticos. No entanto, como já exposto, os óleos essenciais agregam custo na formulação final da fragrância, desta forma, como opção de uso mais barato e fácil reprodutibilidade, são utilizados os acordes

sintéticos, os quais são capazes de trazer à fragrância as principais marcas olfativas do óleo essencial de onde provêm.

1.3 Acordes Olfativos

Acorde olfativo é a definição dada comercialmente às pequenas formulações com usualmente duas a dez matérias-primas que combinadas exibem qualidades olfativas próprias. Os acordes olfativos são adicionados à formulação da fragrância e carregam grande importância durante a criação perfumística, além de contribuírem para a caracterização olfativa final da fragrância. No entanto, não é qualquer combinação que resulta em acordes. A título de exemplo, o acorde floral rosa é criado a partir de matérias-primas que remetem ao odor de rosa ou que estão presentes na composição do óleo essencial de rosa, tais como, álcool fenetílico, acetato de geranila e citronelol. (Calkin, Jellinek, 1996). Além de acordes provenientes de misturas de matérias-primas com a mesma característica olfativa, como acordes florais, acordes de madeira, de pimenta, existem acordes olfativos criados a partir de misturas de ingredientes com diferentes notas olfativas, os quais possuem propriedades específicas que classificam a nota fragrância final e geram tendências.

Fougère, palavra francesa que quer dizer samambaia, é um acorde que surgiu após o lançamento do *Fougère Royale*, fragrância da casa de perfumes Houbigant, em 1882. Ele marcou a história da perfumaria masculina mundial com sua fragrância fresca e confortável, resultado da combinação inédita de lavanda, gerânio, notas de musgo e cumarina. O acorde *Chipre* nasceu com *François Coty*, em 1917, no perfume “*Le Chypre*”, sua inspiração foi a ilha de Chipre, banhada pelo Mar Mediterrâneo. Este acorde combina notas de bergamota, rosa, patchouli, musgo de carvalho e ládano. O oriental é outro acorde utilizado na perfumaria, criado em 1925, onde *Jacques Guerlain* lançou a fragrância *Shalimar*, o acorde oriental possui notas de baunilha, benjoim, cumarina, ládano, especiarias e patchouli. (Anderson, 2012).

As matérias-primas de perfumaria se diferem muito em relação às suas propriedades físico-químicas, especialmente a volatilidade, aspecto este que irá contribuir para a permanência da fragrância no substrato aplicado. Portanto, os ingredientes de fragrâncias são divididos em três grupos de acordo com sua volatilidade (Poucher, 1955), notas de saída, notas de corpo e notas de fundo. As

notas de saída são as mais voláteis e que normalmente representam 15-25% da formulação da fragrância, as notas de corpo possuem volatilidade média e contribuem entre 30-40% da formulação, por fim, as notas de fundo são as que mais permanecem no substrato e representam 45-55% da formulação. A representação da zona das notas olfativas foi criada em 1961 através do desenho de um triângulo, conhecido nos dias de hoje como pirâmide olfativa. (Carles, 1961).

Durante a criação dos acordes, o perfumista se preocupa em definir mentalmente a pirâmide olfativa, sendo assim, é muito importante conhecer não só a sinergia odorífica entre as matérias-primas, bem como as suas características físico-químicas.

Figura 1. Esquema da Pirâmide Olfativa. **Figura 2.** Exemplo de matérias primas utilizadas na perfumaria: 1. D-limoneno. 2. Hexanoato de etila. 3. Álcool fenetílico. 4. Cânfora. 5. *Cis*-Hexanol. 6. Helional. 7. Decanal. 8. Aldeído Cinâmico. 9. Álcool de patchouli. 10. Heliotropina. 11. Baunilha. 12. Galaxolide. 13. *Trisamber*. 14. Ciste. 15. Iso butil quinolina. 16. Indol.

O uso de acordes olfativos vem crescendo na indústria de perfumaria, alguns dos maiores motivos são: a facilidade que o perfumista tem em construí-lo, baixo custo, quando comparado a materiais naturais e também a viabilidade de reproduzir modelos olfativos naturais sem que haja a necessidade de processos como extrações para obtenção de óleos naturais. Para a replicação de odores naturais, a geração de acordes permite que através de resultados analíticos, o perfumista seja capaz de efetuar criações inovadoras. Quer dizer, com o auxílio da análise de cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas, obtêm-se a referência usada durante o processo de confecção, de modo que para o perfumista torna-se mais simples adaptar o acorde às características olfativas originais do material reproduzido. Outra maneira de coletar as informações analíticas como referência para a construção de modelo de acordes é o uso da micro-extração em fase sólida

(SPME), técnica que serve para coletar as moléculas voláteis presentes no “head space” da área de exposição do material em análise. A micro-extração em fase sólida permite que a essência volátil seja extraída e captada, sem obrigar a remoção do material de seu lugar de origem, como uma flor ou uma planta, preservando então a espécie analisada. Outra possibilidade é coletar o “head space” do óleo essencial, em outras palavras, capturar os compostos voláteis através da micro-extração em fase sólida com o objetivo de entender o comportamento das moléculas em temperatura ambiente (25°C) na condição estática.

1.4 Avaliação e Famílias Olfativas

O sentido do olfato é um fenômeno subjetivo, quase instintivo no ser humano, seu estudo em animais inferiores não pode ser realizado com facilidade, portanto as pesquisas científicas enfrentam grandes obstáculos, já que não se pode obter uma resposta verbal de uma cobaia que está sendo submetida à experimentação de determinado odor.

O nariz é o segmento superior da via respiratória. Apresenta dois orifícios externos, chamados de narinas, e dois orifícios internos, as coanas, que se comunicam com a rinofaringe. Deste modo, o nariz pode ser dividido em: nariz externo, ou pirâmide nasal e nariz interno, ou fossas nasais. Em menos de um segundo o ser humano é capaz de detectar inúmeras substâncias presentes no ar, em concentrações tão baixas que nenhuma máquina construída pelo homem registraria. Enquanto os cromatógrafos são capazes de detectar na melhor das hipóteses, concentrações na ordem de fentogramas ($fg = 10^{-15} g$), o nariz humano é capaz de detectar até atogramas ($ag = 10^{-18} g$). (CORAZZA, 2002).

O olfato assim como as emoções, está localizado no mesmo espaço do cérebro, o sistema límbico, a primeira sugestão de participação límbica em mecanismos emocionais foi feita por HERRICK (1933). A memória do olfato é a principal ferramenta utilizada durante o processo de avaliação olfativa, normalmente, para ajudar na descrição de algum odor, é feita uma correlação com algo que o sujeito pode lembrar. Assim, para uma memória olfativa se consolidar, é preciso que os ingredientes trabalhados na perfumaria sejam avaliados com frequência, para que então, origine-se uma lista de descritores. Os ingredientes na

perfumaria são divididos por famílias olfativas, as quais reúnem compostos com perfis odoríferos semelhantes.

Segundo a perfumaria, os ingredientes são divididos nas seguintes famílias: 1. Cítricos - Constituída por compostos naturais e sintéticos que possuem descrições olfativas cítricas, na sua maioria terpenos. 2. Frutal - Em grande parte composta por ésteres que possuem odores relativos ao odor de frutas. 3. Floral - Ingredientes naturais e sintéticos que remontam o cheiro de flores. 4. Aromáticos - Ingredientes com odores canforados, por exemplo, lavanda. 5. Verde - Seus constituintes suscitam o odor de materiais verdes, como grama molhada. 6. Aquosa - Os ingredientes desta família carregam a característica de elementos aquosos, como melão ou brisa do mar. 7. Aldeídicos - Nesta família os ingredientes trazem a sensação de limpeza. 8. Especiarias - Os ingredientes são especiarias também conhecidas na culinária, como pimenta, cravo e canela. 9. Madeiras - Os integrantes desta família são extraídos a partir de madeiras ou moléculas sintéticas que retratam o odor de madeira. 10. Talcados - Aludem ao odor de talco. 11. *Gourmand* - Possui ingredientes que referem a sabores de doces. 12. Almiscarados - Formada por moléculas que possuem características olfativas do almíscar, na sua maioria moléculas policíclicas. 13. Ambarados - ingredientes que dizem respeito ao odor âmbar. 14. Balsâmicos - Ingredientes resinosos e de odor licoroso. 15. Couros - Como o próprio nome diz, faz menção ao odor de couro. 16. Animálicos - Ingredientes que no passado eram extraídos de animais ou que remetem cheiro de animais.

1.5 A família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae, uma das maiores, mais diversas e complexas das Angiospermas, possui 334 gêneros (RADCLIFFE-SMITH, 2001) e mais de 8000 espécies distribuídas em todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais. No Brasil, segundo o site Flora do Brasil, ocorrem 64 gêneros e cerca de 950 espécies, representadas em todos os tipos de vegetação. Dentre as espécies de maior importância econômica da família destacam-se *Manihot esculenta* Crantz, a mandioca, uma das principais fontes de amido para a alimentação humana, e *Hevea brasiliensis* Muell. Arg., a seringueira, principal fonte de borracha natural, ambas nativas do Brasil.

No estado de São Paulo são encontrados 37 gêneros e cerca de 187 espécies da família. *Croton* L. é o segundo gênero mais rico em espécies, cerca de 800 nos trópicos e subtropicais. A espécie estudada nesta dissertação foi coletada na região do Morro do Diabo (Teodoro Sampaio-SP), e possui aspecto de acordo com a figura abaixo:

Figura 3. Imagem da espécie de *C. tricolor*.

Apesar da grande ocorrência do gênero *Croton* no país, apenas nove espécies do Norte e Nordeste brasileiro foram analisadas quanto à composição do óleo essencial. *C. zehtneri* Pax & K.Hoffm. é reconhecido por seu odor agradável com notas de anis e cravo. Nessa espécie foram reconhecidos dois quimiotipos, uma variedade apresentou altos teores de estragol (57% do óleo total) e anetol (28% do óleo total) e outra apresentou eugenol (47%) como componente principal (CRAVEIRO et al., 1978; COELHO de SOUZA et al., 1997). Nos últimos anos, a espécie *C. cajucara* Benth., nativa do Norte do Brasil, tem sido muito estudada devido a seu alto teor em linalol (41% do óleo total), tendo sido apontada como uma fonte alternativa para obtenção comercial deste composto (LOPES et al., 2000). Uma espécie africana, *C. aubrevillei*, também apresentou o linalol como componente majoritário (35%) (MENUT et al., 1995). *Croton* . é um gênero Pantropical, com seu principal centro de diversidade localizado nos Neotrópicos.

No Brasil ocorrem aproximadamente 300 espécies, das quais 46 são encontradas em São Paulo, representadas em todos os tipos de vegetação do estado, com exceção dos manguezais. Das 46 espécies de *Croton* ocorrentes no Estado de São Paulo, 18 não são exclusivamente brasileiras: *C. aberrans* Müll. Arg., *C. antisiphiliticus* Mart., *C. didrichsenii* G.L.Webster, *C. floribundus* Spreng., *C.*

fuscescens Spreng., *C. glandulosus* L., *C. gracilipes* Baill., *C. grandivelus* Baill., *C. hirtus* L'Hér., *C. lanatus* Lam., *C. lundianus* (Didr.) Müll. Arg., *C. pedicellatus* Kunth, *C. rottlerifolius* Baill., *C. sclerocalyx* (Didr.) Müll. Arg., *C. serratifolius* Baill., *C. tricolor* Klotzsch ex Baill., *C. triqueter* Lam. e *C. urucurana* Baill. Dentre as 28 espécies exclusivamente brasileiras: *C. alchorneicarpus* Croizat é uma árvore endêmica da Serra da Mantiqueira, da floresta ombrófila montana e matas ciliares do Sudeste do Brasil (Caruzo & Cordeiro, 2007). *C. celtidifolius* Baill., árvore muito comum no Sudeste e Sul do Brasil (Santos 2016). *C. chaetophorus* Müll. Arg., *C. glechomifolius* Müll. Arg. e *C. serpyllifolius* Müll. Arg. têm suas ocorrências confirmadas no Sudeste (São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina) e seus domínios fitogeográficos é o Cerrado e a Mata Atlântica. *C. chloroleucus* Müll. Arg. e *C. heterodoxus* Baill., ocorrem no Sudeste (São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina) tendo como domínio fitogeográfico a Mata Atlântica. *C. compressus* Lam. tem ocorrências confirmadas no Sudeste (Rio de Janeiro e São Paulo) e domínio fitogeográfico é a Mata Atlântica. *C. dichrous* Müll. Arg., presente no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná), a Mata Atlântica é o seu domínio fitogeográfico. *C. echinocarpus* Baill. ocorre no Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo). *C. erythroxyloides* Baill. ocorre no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Santa Catarina), tendo como domínios o Cerrado e a Mata Atlântica. *C. fuscus* (Didr.) Müll. Arg., ocorrências confirmadas no Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (São Paulo) e Sul (Paraná). *C. hemiargyreus* Müll. Arg., espécie com distribuição disjunta entre florestas úmidas de Pernambuco e florestas úmidas montanas de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Caruzo & Cordeiro, 2013). *C. incertus* Müll. Arg., *C. pardinus* Müll. Arg., *C. priscus* Croizat e *C. ypanemensis* Müll. Arg. têm ocorrências confirmadas em São Paulo. *C. lanceolaris* G.L. Webster, ocorrências no Centro-Oeste (Mato Grosso) e Sudeste (São Paulo) e Domínio no cerrado. *C. leptobotrys* Müll. Arg. presente no Centro-Oeste (Goiás) e Sudeste (Minas Gerais, São Paulo). *C. macrobothrys* Baill. aparece no Nordeste (Alagoas, Bahia), Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina). *C. organensis* Baill. tem ocorrências confirmadas no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo). *C. pallidulus* Baill. ocorre no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina). *C. piptocaly* Müll. Arg. reportado no Nordeste (Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) e Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo). *C. salutare* Casar.

reconhecida no Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná). *C. sanctae-crucis* S. Moore encontrado no Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul) e Sudeste (São Paulo). *C. sphaerogynus* Baill., confirmada no Nordeste (Bahia) e Sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo). *C. splendidus* Mart. ex Colla confirmada para o Nordeste (Bahia), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina). E por fim, *C. vulnerarius* Baill. com presença reconhecida no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná).

As espécies ocorrentes preferencialmente acima do trópico de Capricórnio e amplamente distribuídas nos neotrópicos são: *C. glandulosus*, *C. hirtus*, *C. pedicellatus* e *C. triqueter*, todas espécies herbáceas ou arbustivas, em sua maioria consideradas invasoras; as moderadamente amplas, encontradas em praticamente toda América do Sul, são: *C. antisiphiliticus* e *C. didrichsenii*, subarbustos dos cerrados, e *C. urucurana*, espécie arbórea muito utilizada no reflorestamento de áreas degradadas; as de distribuição restrita, com limite Sul próximo ao Trópico de Capricórnio e limite Norte em diferentes latitudes (Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil) são: *C. floribundus*, *C. fuscescens*, *C. gracilipes*, *C. grandivelus*, *C. lundianus*, *C. piptocalyx* e *C. tricolor*. As de distribuição muito restrita encontradas apenas no Sudeste ou, também no Nordeste ou Centro-Oeste são: *C. compressus*, *C. erythroxyloides*, *C. leptobotrys*, *C. sanctae-crucis*, *C. sclerocalyx*, *C. sphaerogynus* e *C. warmingii*. Dentre as espécies que ocorrem preferencialmente abaixo do trópico de capricórnio estão *C. alchorneicarpus*, *C. celtidifolius*, *C. macrobothrys*, *C. organensis*, *C. priscus*, *C. salutaris* e *C. vulnerarius*, que são árvores principalmente das florestas ombrófilas densas, das encostas da Serra da Mantiqueira e da Serra do Mar, enquanto que *C. dichrous*, *C. lanatus*, *C. serratifolius*, *C. glechomifolius*, *C. heterodoxus*, *C. pallidulus* e *C. serpyllifolius* são subarbustos dos campos.

Tabela 1. Vegetação de ocorrência das espécies de *Croton* de São Paulo.

Espécies do Gênero <i>Croton</i> Ocorrentes em SP	
Nome	Tipo de Vegetação
<i>Croton aberrans</i>	Cerrado, Floresta Ombrófila
<i>Croton alchorneicarpus</i>	Floresta Ombrófila, Floresta Ombrófila Mista
<i>Croton antisiphiliticus</i>	Caatinga, Cerrado, Floresta de Terra Firme
<i>Croton celtidifolius</i>	Floresta Ombrófila
<i>Croton chaetophorus</i>	Campo Limpo, Cerrado, Floresta Ombrófila
<i>Croton chloroleucus</i>	<i>Não descrito</i>
<i>Croton compressus</i>	Restinga
<i>Croton dichrous</i>	Campo de Altitude, Floresta Ombrófila, Floresta Ombrófila Mista
<i>Croton didrichsenii</i>	Campo de Altitude, Campo Limpo, Cerrado
<i>Croton echinocarpus</i>	Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila
<i>Croton erythroxyloides</i>	Campo Rupestre, Cerrado, Floresta Ombrófila, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos
<i>Croton floribundus</i>	Área Antrópica, Floresta Ciliar, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila
<i>Croton fuscescens</i>	Caatinga, Floresta Ombrófila
<i>Croton fuscus</i>	Cerrado
<i>Croton glandulosus</i>	Área Antrópica, Caatinga, Campo Limpo, Cerrado, Floresta Ciliar, Floresta de Igapó, Floresta de Terra Firme, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila, Manguezal, Restinga, Savana Amazônica
<i>Croton glechomifolius</i>	Campo Limpo
<i>Croton gracilipes</i>	Floresta Estacional Semidecidual
<i>Croton grandivelus</i>	Caatinga, Campo Limpo, Campo Rupestre, Cerrado, Floresta Estacional Decidual
<i>Croton hemiargyreus</i>	Floresta Ombrófila
<i>Croton heterodoxus</i>	Área Antrópica, Campo Limpo
<i>Croton hirtus</i>	Área Antrópica, Caatinga, Floresta de Terra Firme, Floresta Estacional Decidual, Floresta Ombrófila
<i>Croton incertus</i>	Campo Limpo
<i>Croton lanatus</i>	Campo de Altitude, Campo Limpo
<i>Croton lanceolaris</i>	Cerrado
<i>Croton leptobotrys</i>	Floresta Estacional Semidecidual
<i>Croton lundianus</i>	Campinarana, Campo Limpo, Cerrado, Floresta Ciliar, Floresta de Igapó, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila, Restinga
<i>Croton macrobothrys</i>	Floresta Ombrófila

Nome	Tipo de Vegetação
<i>Croton pallidulus</i>	Campo de Altitude, Campo Limpo, Floresta Ciliar, Palmeiral, Vegetação Aquática
<i>Croton pardinus</i>	Não descrito
<i>Croton pedicellatus</i>	Caatinga, Cerrado, Floresta Ombrófila
<i>Croton piptocalyx</i>	Floresta Estacional Semidecidual
<i>Croton priscus</i>	Floresta Ombrófila
<i>Croton rottlerifolius</i>	Floresta Estacional Semidecidual
<i>Croton salutaris</i>	Floresta Ombrófila
<i>Croton sanctae-crucis</i>	Cerrado
<i>Croton sclerocalyx</i>	Cerrado
<i>Croton serpyllifolius</i>	Campo de Altitude, Cerrado
<i>Croton serratifolius</i>	Campo Limpo, Cerrado
<i>Croton sphaerogynus</i>	Restinga
<i>Croton splendidus</i>	Campo de Altitude, Campo Limpo, Floresta Ombrófila, Restinga, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos
<i>Croton tricolor</i>	Caatinga, Campo Rupestre, Carrasco, Cerrado, Floresta Ombrófila, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos
<i>Croton triqueter</i>	Área Antrópica, Caatinga, Carrasco, Cerrado, Floresta Ciliar, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila, Floresta Ombrófila Mista, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos
<i>Croton urucurana</i>	Floresta Ciliar, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila
<i>Croton vulnerarius</i>	Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila
<i>Croton ypanemensis</i>	Campo Limpo

Fonte: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 22 Abr. 2019

2 OBJETIVO

O objetivo deste projeto é avaliar e caracterizar o óleo essencial de *Croton tricolor* (Euphorbiaceae) com a finalidade de seu posterior emprego na indústria de fragrâncias como modelo de acorde olfativo. A caracterização e quantificação do óleo essencial irá proporcionar a criação de acordes de fragrâncias que possuem descrições olfativas baseadas no produto original, deste modo, irá facilitar a utilização do mesmo, evitando problemas, como sazonalidade de produção e reprodutibilidade, que afetam a fabricação das fragrâncias.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Material Vegetal

As folhas dos espécimes de *C. tricolor* foram coletados de populações nativas do estado de São Paulo, na região do Morro do Diabo (Teodoro Sampaio-SP, 22° 31' 48,003" S 52° 9' 35,999" W) pela Dra. Maria Beatriz Rossi Caruzo e Dra. Inês Cordeiro do Instituto de Botânica_SMA/SP. Amostras de referência (CARUZO 87) foram depositadas no Herbário dessa Instituição. (Coordenadas Geográficas do ponto de coleta)

3.1.2 Reagentes

Alfa-pineno (lote:161608); Álcool fenílico (lote:163895); DPG (lote:045655); Eucaliptol (lote:059436); Limoneno (lote:045790) ; Nerolidol (lote:142628) ; Óleo de cedro (lote:038420) ; Óleo de laranja (lote:158042).

3.2 Métodos

3.2.1 Obtenção do Óleo Volátil

O material vegetal coletado foi seco à sombra à temperatura ambiente e armazenado em freezer (-18 °C). O óleo volátil foi obtido a partir do material vegetal (200 g) reduzido com o auxílio de moinho de facas, tipo te-580 (Tecnal, Brasil) com tamiz de 200 µm, e submetido à hidrodestilação em processo contínuo com aparelho de Clevenger durante 4 horas. O óleo obtido apresentava uma coloração amarelada com rendimento de 0,75 % (m/m)

Figura 4. Esquema do aparelho de Clevenger.

3.2.2 Injeção da amostra

O óleo essencial foi analisado em um cromatógrafo a gás modelo Agilent 6890N acoplado ao espectrômetro de massas modelo 5975, vide figura 5.

Figura 5. Cromatógrafo a gás modelo Agilent - 6890N/MSD5975

A amostra foi diluída à 1% em acetona e o volume de injeção de 1 μ L. O tempo total de análise foi de 110 minutos, usando rampa de temperatura com 40°C como inicial e a final de 300°C. A coluna utilizada durante a corrida foi de caráter não polar, melhor indicada para análise dos compostos orgânicos presentes em fragrâncias. Os detalhes do método não podem ser informados devido ao termo de confidencialidade da empresa IFF.

3.2.3 Quantificação dos Compostos

O fator de resposta de um determinado composto é aproximadamente proporcional ao número de átomos de carbono, onde a presença de hetero-elementos diminui o fator resposta. O número efetivo de carbonos (NEC) prevê 20%

o fator de resposta de um composto, onde “x” representa a contribuição numérica de cada átomo: NEC: Σx . (BARTOLILLO, 2012)

A tabela 2 demonstra os valores de X de acordo com o tipo de átomo de carbono:

Tabela 2. Fator de resposta de compostos orgânicos

Tipo de Carbono	X
Carbono Alifático	+ 1,00
Carbono Aromático	+ 1,00
Carbono Olefínico	+ 0,95
Carbono Carbonila	+ 0,00
Álcool Primário	- 0,60
Carbono Intermediário Alifático	- 0,12

Para a quantificação do óleo essencial, mistura complexa que contém diferentes classes de compostos orgânicos, a análise não dependeu apenas da área total dos picos, sendo então calculada a área absoluta dos compostos. No caso da amostra em questão, os picos foram quantificados de acordo com o fator resposta dos constituintes orgânicos, conforme mencionado acima. Através de uma “macro” privada pela empresa IFF, os valores de área absoluta foram calculados e então manipulados para determinar a quantia dos compostos. Os sistemas de dados que controlam os cromatógrafos permitem que a macro seja utilizada.

3.2.4 Caracterização de voláteis

A caracterização dos compostos foi realizada por meio dos sistemas Chemstation MSD e Masshunter, ambos desenvolvidos pela Agilent, também se usou a referência de índice de éster disponível na biblioteca da IFF e a técnica de deconvolução, que consiste basicamente na separação de picos que se sobrepõem. O tempo de injeção da corrida no cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama foi o mesmo que aquele para a corrida injetada no equipamento com detector de massas, desta forma foi possível comparar os picos de ambas técnicas e então prosseguir com a identificação.

Figura 6. Comparativo do Cromatograma (FID) versus Espectrograma (MSD), amostra de *Croton tricolor*.

Como suporte na identificação, aplicou-se a metodologia de determinação do índice de retenção, que no caso da IFF, adota índice de ésteres. Para a determinação do índice de éster do limoneno, por exemplo, calculou-se a correlação linear, a partir dos dados dos ésteres conhecidos e presentes na mistura do éster padrão. Exemplo, utilizando planilha do Microsoft Excel:

Éster padrão 1 - Índice de Éster = 6. Tempo de Retenção = 24,65 min;

Éster padrão 2 - Índice de Éster = 7: Tempo de Retenção = 32,39 min;

Tempo de retenção do limoneno para a coluna não polar = 28,00 min.

Tabela 3. Relação de índice de ésteres

Tempo de Retenção	Índice de Éster
X	Y
24,7	6
32,4	7
40,0	8

a - coeficiente linear 2,77

b - coeficiente angular 0,13

Os cálculos de éster foram feitos automaticamente através do sistema da IFF, e a mistura de éster padrão da IFF não pode ser descrita, por razões de sigilo.

3.2.5 Análise do comportamento olfativo do acorde

Para a avaliação do comportamento olfativo do acorde, usou-se um programa desenvolvido pela IFF, em que, baseado nas informações físico-químicas dos compostos e desempenho olfativo, determina o perfil do acorde em relação ao OVC, limite de percepção e limite de concentração dos compostos. Além do programa, utilizou-se a escala LMS para classificação das amostras em relação ao limite de percepção. As avaliações realizadas pelo painel olfativo estão armazenadas no programa, de modo que não foi possível detalhar seu mecanismo de funcionamento, devido a confidencialidade. As amostras analisadas para criação do banco de dados do programa foram diluídas em DPG de 0,001% até a concentração 100%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do *Croton tricolor* (Euphorbiaceae)

Ao avaliar olfativamente a amostra e após efetuar a análise de qualificação e quantificação, foi possível perceber que o óleo essencial de *C. tricolor* possui uma quantidade interessante de componentes odoríficos, os quais são encontrados com frequência em outros materiais utilizados na indústria de fragrâncias. Os três compostos majoritários encontrados na análise foram: biciclogermacreno, espatulenol e alfa-pineno, conforme descrito na tabela 4. Aproximadamente 45% da área total do cromatograma são compostos que não foram reconhecidos pelas bibliotecas.

Tabela 4. Identificação dos componentes presentes no óleo essencial de *Croton tricolor*.

Tempo de Retenção (min)	Índice de Éster	Componente	% Área
20,97	5,55	alfa-pineno	6,83
23,62	5,91	sabineno	0,22
23,97	5,96	beta-pineno	0,57
27,79	6,45	eucaliptol	0,30
27,91	6,47	limoneno	0,94
39,64	7,99	di-hidrocarveol	0,14
40,86	8,16		0,12
54,15	10,01		0,32
54,65	10,08	alfa copaeno	0,14
54,91	10,12		0,21
55,22	10,17		0,13
55,46	10,20	beta elemeno	5,50
57,02	10,44		0,25
57,55	10,52	aromadendreno	2,24
58,51	10,66		0,29
58,66	10,68		0,18
58,89	10,72	alfa humuleno	0,88
59,08	10,75		0,28
59,44	10,80	alo-aromadendreno	0,17
59,74	10,85		1,22
60,23	10,92		0,81
60,77	11,00		0,17
61,05	11,04	selina-4,11-dieno	0,72
Continua			

Tempo de Retenção (min)	Índice de Éster	Componente	% Área
61,40	11,10	germacreno a	0,18
61,80	11,16	selina-3,11-dieno	2,65
62,12	11,21		0,39
62,46	11,27	biciclogermacreno	15,40
63,02	11,36		0,16
63,36	11,41	delta-cadineno	0,34
63,55	11,44	calameneno	0,10
63,83	11,49	gama bisaboleno	0,27
65,79	11,80	nerolidol, trans	0,31
66,20	11,86		0,14
66,58	11,92		0,28
66,77	11,95		0,18
67,01	11,99	espatulenol	10,53
67,32	12,04		1,32
67,42	12,06		0,70
67,65	12,10	aromadendrol	1,26
68,12	12,18	viridiflorol	0,85
68,23	12,19	isolongifoleno	1,16
68,45	12,23		0,48
68,62	12,26	7-epi-gama-eudesmol	0,34
68,84	12,30		1,84
69,23	12,36		1,53
69,65	12,43	isoespatulenol	0,91
69,86	12,47		0,69
70,00	12,49		0,41
70,14	12,51		0,40
70,30	12,54		0,16
70,47	12,57	selina-4,6-dien-8-ol	1,21
70,68	12,60		0,81
70,91	12,64	alfa cadinol	0,85
71,05	12,67		0,45
71,25	12,70		0,57
71,49	12,74		2,71
71,66	12,77		1,39
72,03	12,83		1,24
72,35	12,88		1,46
72,61	12,93		0,65
73,04	13,00		1,38
73,19	13,03		0,33
73,28	13,04		0,43
73,41	13,07		0,42
73,59	13,10		0,76
73,82	13,14		0,76
74,09	13,19		0,76

Continua

Tempo de Retenção (min)	Índice de Éster	Componente	% Área
74,21	13,21		0,27
74,37	13,24		0,51
74,47	13,25		1,27
74,85	13,32		0,40
74,98	13,35		0,95
75,29	13,40		1,06
75,46	13,43		0,72
75,96	13,52		0,95
76,09	13,54		0,54
76,46	13,61		0,35
76,61	13,64		0,54
76,80	13,67		0,36
77,36	13,77		0,29
77,81	13,85		1,06
78,31	13,94		0,18
78,80	14,04		0,18
81,42	14,65		0,13
81,51	14,67		0,17
87,04	16,25		0,83
89,21	17,02		0,11
91,30	17,87		0,54
91,78	18,08		0,62
92,10	18,22		0,51
92,59	18,45		0,72
93,14	18,70		1,29
94,27	19,23		0,15
95,99	20,10		0,77
98,61	21,41		0,06
103,02	23,62		0,96
104,77	24,50		1,05
112,91	28,58		0,26

Em seguida, as figuras 7, 8 e 9 apresentam os espectros de massas dos três principais compostos identificados na análise do óleo essencial de *C. tricolor*.

Figura 7. Espectro de massas do ingrediente bicyclgermacreno.

Figura 8. Espectro de massas do ingrediente spatulenol.

Figura 9. Espectro de massas do ingrediente alfa-pineno.

Durante a identificação dos compostos houve a coeluição para alguns picos, para os quais foi aplicada a técnica de deconvolução. Como exemplo, a sobreposição dos compostos: limoneno e eucaliptol, ambos possuem o mesmo índice de éster (6.40). Para efetuar a separação dos dois picos, utilizou-se sistema de tratamento de dados, que por sua vez, viabilizou a identificação de ambos com a informação do íon molecular – o pico no espectograma com maior valor de m/z - do limoneno (67) e do íon molecular do eucaliptol – 1,8-cineol – (43).

Figura 10. Sobreposição dos picos de limoneno e eucaliptol (1,8-Cineol).

4.2 Criação do acorde olfativo de *Croton tricolor*

Com a identificação e quantificação dos principais integrantes do óleo essencial de *C. tricolor*, foi possível criar um acorde olfativo sintético. Nem todos os compostos analisados permitem seu uso na criação do acorde, alguns não são comercializados, ou não fazem parte do catálogo criativo da indústria de fragrâncias. Nestes casos, o perfumista usa como base a característica olfativa dos componentes cruciais no ingrediente natural e assim reproduz o acorde. Desta maneira, se utiliza outros ingredientes com componentes principais em comum. O biciclogermacreno e espatulenol, por exemplo, não são presentes nos catálogos criativos, ou seja, não são comercializados. Sob estas circunstâncias, os perfumistas buscam outros compostos disponíveis que possuam as mesmas

características olfativas destes. O acorde de *C. tricolor* foi criado com 8 ingredientes, conforme descrição abaixo:

Tabela 5. Formulação do acorde de *Croton tricolor*.

Ingredientes	%(m/m)
Dipropileno glicol	80,7
Alfa-pineno	7,0
Álcool fenetílico	5,0
Óleo de cedro	5,0
Óleo de laranja	0,5
Limoneno	1,0
Eucaliptol	0,5
Nerolidol	0,3
	100

A escolha dos ingredientes, primeiramente, é feita de acordo com o resultado da identificação cromatográfica. Ilustrando, o alfa-pineno, foi um dos que tiveram maior abundância e que está disponível comercialmente para ser adicionado na formulação. Outros que puderam ser inseridos a partir da análise foram: limoneno, eucaliptol e nerolidol. Os demais identificados, embora não incorporados diretamente, utilizou-se o conhecimento olfativo e analítico de outros compostos que puderam ser acrescidos na fórmula. O óleo de cedro, por exemplo, possui em sua composição alguns dos elementos encontrados na análise do óleo essencial de *C. tricolor*, como o biciclogermacreno, alfa copaeno, beta elemeno, selina-3,11-dieno, aromadendreno, aromadendrol e selina-4,6-dien-8-ol, o que fortificou a decisão de utilizá-lo na formulação do acorde e que inclusive proporcionou o odor amadeirado, fator presente no óleo natural do *C. tricolor*. A justificativa para o uso do óleo de laranja foi o fato de apresentarem descrições olfativas parecidas por causa da presença do beta-pineno, significando que ambos possuem notas cítricas. O álcool fenetílico foi agregado à fórmula devido ao óleo natural de *C. tricolor* apresentar característica floral-rosa, embora em sua análise não foi denotado nenhum composto comum ao óleo essencial de rosas, como o próprio álcool fenetílico, o geraniol ou o citronelol. Por fim, como muitos integrantes da amostra original não foram identificados, utilizou-se o dipropileno glicol como solvente, apenas para diluir o acorde e fazer com que sua formulação completasse em 100%.

4.3 Características Olfativas do acorde de *Croton tricolor* (Euphorbiaceae)

Para fazer a descrição de um acorde, isto é, quando se determina suas características olfativas, é preciso primeiramente conhecer as propriedades olfativas e físico-químicas dos materiais utilizados na composição do mesmo. Os fatores primordiais levados em consideração que influenciam na contribuição olfativa dos compostos são: massa molecular, pressão de vapor, valor de contribuição olfativa, limite de percepção e tipo de nota olfativa de cada composto da formulação do acorde. A massa molecular e pressão de vapor estão diretamente ligadas à volatilidade, em outros termos, quanto maior a massa da molécula, menos volátil ela será, por outro lado, quando maior a pressão de vapor, maior a volatilidade. O valor de contribuição olfativa (OVC) e o limite de percepção são parâmetros considerados na perfumaria relacionados ao potencial olfativo do ingrediente, ou seja, quanto maior o valor de OVC, menor será o limite de percepção olfativa deste. Isto significa que, nem sempre a quantidade do composto estará relacionada à sua contribuição na formulação. De forma geral, compostos que têm maior contribuição olfativa, normalmente são adicionados em menor quantidade, mas ainda assim apresentam baixo limite de percepção.

O contrário ocorre com moléculas que possuem baixo OVC. A sua contribuição olfativa na formulação será mínima ou em algumas situações nenhuma, como é o caso do dipropileno glicol, usado como solvente na formulação, porém não afeta o olfativo do acorde. Conforme já mencionado anteriormente, na criação do acorde ou de uma fragrância é necessário que haja o equilíbrio entre os compostos, o que significa que deve haver um balanço entre notas de saída, de corpo e de fundo, no caso do acorde de *C. tricolor*, os constituintes possuem características variadas, do modo como descrito na tabela 6.

Tabela 6. Características físico-químicas e olfativas dos compostos do acorde de *Croton tricolor*.

Material	Massa Molecular	Pressão de Vapor (mmHg)	OVC	Limite de Percepção (sol. em DPG) %	Nota Olfativa	Tipo de Nota Olfativa
DPG	134	1,0000	0	-	-	-
Alfa-pineno	136	6,9000	74,6	0,075	Cítrica	Saída
Álcool fenetílico	122	0,02600	3,9	0,010	Floral/Rosa	Corpo
Óleo de cedro	-	0,00200	14,2	0,075	Madeira	Fundo
Óleo de laranja	-	1,00000	0,5	0,025	Cítrica	Saída
Limoneno	136	1,00000	1,7	0,100	Cítrica	Saída
Eucaliptol	154	1,40000	1,4	0,010	Pinho	Saída
Nerolidol	222	0,00081	3,7	1,500	Floral/Flor de Laranjeira	Corpo

A massa molecular não foi calculada para os óleos de cedro e laranja adicionados no acorde de *C. tricolor*, por conterem diversos compostos em sua formulação. De acordo com a tabela 6, quando avalia-se o limite de percepção dos constituintes da amostra, e portanto, a menor quantidade em solução que pode ser detectável, nota-se que o álcool fenetílico e o eucaliptol são os compostos que são melhores percebidos em menores concentrações (0,010%), no entanto, fazendo um comparativo com os valores de contribuição olfativa (OVC) e a quantidade do composto na formulação do acorde, é possível fazer uma correlação entre as duas propriedades e entender qual composto irá mais contribuir para a nota final do acorde. Baseado nos valores citados, percebe-se que o alfa-pineno, seguido do óleo de cedro, estão promovendo a maior contribuição olfativa ao acorde. Em seguida é possível visualizar este comparativo de forma gráfica (Figura 11).

Comportamento da formulação do acorde de *Croton tricolor*

Figura 11. Gráfico comparativo OVC versus quantidade de ingrediente na formulação do acorde de *Croton tricolor*.

Além da relação da contribuição olfativa dos compostos em uma formulação, é viável comparar o limite de percepção olfativa dos mesmos, de maneira que seja possível também entender a sua contribuição olfativa na formulação. Para avaliação deste limite, as amostras são submetidas a diluições variadas, no caso dos compostos do acorde em estudo, as soluções foram feitas de 0,001% a 100% em dipropileno glicol e os testes olfativos realizadas por humanos. As quantificações das intensidades dos compostos foram realizadas com a utilização da escala LMS que se caracteriza por espaçamentos não-lineares (semi-logarítmicos) das âncoras (fraco, moderado, forte, etc), representando a real percepção olfativa humana. Trata-se de uma escala híbrida, que combina a obtenção de respostas absolutas das escalas de razão com a facilidade de interpretação das escalas de categoria (Figura 12), e permite que as avaliações de intensidades aconteçam de forma natural e direta. 0,0 cm = Não detectável; 0,3 cm = Quase não detectável; 1,2 cm = Fraco; 3,4 cm = Moderado; 7,1 cm = Forte; 10,7 cm = Muito Forte; 20,0 cm = O mais forte imaginável. (LMS Labeled Magnitude Scale - Green et al., 1993)

Figura 12. Escala LMS

O limite de percepção dos compostos odoríficos no acorde de *Croton tricolor* podem ser vistos na Figura 13.

Figura 13. Gráfico de limite de percepção dos compostos do acorde em estudo.

Também com o resultado do limite de concentração, descrito no gráfico anterior, é possível plotar o comportamento das amostras de acordo com a concentração mínima percebível de cada uma delas (Figura 14).

Figura 14. Plotagem dos ingredientes em relação ao limite de percepção.

Outro fator que ocorre são as interações entre os compostos, traços de citronela (nota cítrica), por exemplo, quando misturados em uma fragrância rica em nerolidol (nota floral), contribuem negativamente para a percepção de intensidade, ou seja, diminui a percepção olfativa da mistura, porém a mesma quantidade de citronela em conjunto com baunilha (doce), por serem notas contrastantes, contribui bem mais para a percepção olfativa da mistura. Além das percepções olfativas, também pode acontecer reações entre os componentes, ou com a base do produto final aplicado (hidro alcoólica, shampoo, sabonete, detergente em pó, etc), o que irá modificar a característica olfativa do produto final.

As reações podem ocorrer entre os compostos, como mencionado acima, pois dentro da composição do acorde ou de uma fragrância existe uma variação de compostos orgânicos, como aldeídos, ésteres e cetonas. As principais reações conhecidas na perfumaria são: oxidação, formação de base Schiff e hidrólise. A maceração, jargão utilizado na indústria de perfumaria para o processo de maturação da fragrância, também é algo que deve-se tomar atenção durante a caracterização do acorde ou de uma fragrância, ele é aplicado para que haja a “acomodação das moléculas” dentro da formulação do acorde ou fragrância e normalmente é durante a maceração que as primeiras reações entre os as moléculas ocorrem. A maceração tem um tempo variado, depende do fabricante da fragrância ou acorde e também do tipo de nota. Usualmente utiliza-se de 24 horas

a 15 dias, dependendo da complexidade da formulação, ou seja, o número de tipos diferentes de moléculas existentes na composição. A figura 15 ilustra um exemplo de reação que ocorre durante o processo de maceração. A figura 16 propõe o mecanismo de reação.

Fenil acetaldeído + 2-feniletanol = hemiacetal (diminui a potência do aldeído)

Figura 15. Formação de hemiacetal.

Figura 16. Mecanismo de reação para a formação de hemiacetal.

Mecanismo de Reação: Formação de Hemiacetal

Reação 1

Reação 2

Reação 3

Reação 4

Portanto, com as características citadas anteriormente, referente ao acorde do óleo essencial de *C. tricolor*, pode-se criar a sua pirâmide olfativa e então classificá-lo perante as notas presentes na formulação (Figura 17). Sua classificação olfativa é: *citrus*, floral amadeirado, de acordo com a avaliação feita por especialistas em avaliação de fragrâncias, e também confirmada com as propriedades físico-químicas e comportamento dos compostos do acorde apresentados anteriormente. É válido ressaltar que este processo de classificação olfativa realizado para o acorde criado, não foi possível aplicar para a amostra original, devido à falta de informações de alguns compostos nos sistemas utilizados, exemplo biciclogermacreno.

Figura 17. Pirâmide olfativa do acorde do óleo essencial de *Croton tricolor*.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, foi possível obter o acorde de óleo essencial de *Croton tricolor*, baseando-se na análise de quantificação e caracterização do óleo original. Embora alguns compostos identificados na análise do óleo original não puderam ser adicionados na formulação do acorde, através dos conhecimentos olfativo e analítico de outros materiais com componentes similares, como foi o caso do óleo de cedro, foi possível obter um acorde criado a partir da referência. O uso da técnica de cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas foi essencial para determinar os voláteis da amostra original, o que foi melhor aplicado com a técnica de deconvolução durante a identificação dos compostos.

.Outro ponto muito importante que pode-se observar durante a realização deste estudo, é a possibilidade de recriar o odor natural e permitir com que a reprodutibilidade seja garantida, uma vez que tem-se a formulação do acorde conhecida e aprovada olfativamente, além de poder evitar problemas de sazonalidade de produção, o que ocorre normalmente com óleos essenciais. Os gráficos apresentados no decorrer do estudo mostraram que o acorde, embora contivesse um número não muito grande de compostos, como já previsto em acordes, pôde ser classificado olfativamente, o qual também apresentou equilíbrio em relação a notas de saída, corpo e fundo, item importante durante a criação de uma fragrância.

Por fim, como conclusão deste estudo, pode-se comprovar que a utilização de acordes na indústria de fragrância pode ser uma opção econômica e inovadora para a representação de odores naturais sem que seja necessário tê-los na formulação, assim sendo irá evitar todos os cuidados que existem na produção naturais, como controle de reprodutibilidade, controle de sazonalidade, extinção de materiais, entre outros que possam existir.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, S., ed. **IFF Perfume Academy**. France, Neuilly. 2012.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ mass spectrometry**. 4^a ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, 2007.

AGILENT, T. **Agilent 7890B/5077 or 5975 GC/MS Techniques and Operation with Masshunter Data Analysis Course Number R3900A**. Vol.1, 2016.

ASHCAR, R. **Brasil Essência - A cultura do perfume**. São Paulo: Nova Cultural, 2001.

AZEVEDO, D.A. **Espectrometria de Massas**. Apostila LABEM – Laboratório de Espectrometria de Massas - Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária – UFV. Vol. 2. 377 p. 1984.

BARILLÉ, Elisabeth; LAROZE, Catherine. **The book of perfume**. Paris: Fammarion, 1995.

BARTOLILLO, F.. **Sapiens Tecnologia**. São Paulo, 2012.

CALKIN, R.R.; JELLINEK, J. S. **La Perfumería Práctica y Principios**. Acribia. 1996.

CARLES, J. **Une méthode de création en parfumerie**. Recherches, 1961. p 328-335.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. São Paulo: Editora da UNICAMP, 1997.

GREEN, B.G., Shaffer, G.S. and Gilmore, M.M. **Derivation and evaluation of a semantic scale of oral sensation magnitude with apparent ratio properties**. Chem. Senses, v. 18, n. 6, p. 683-702, Dec. 1993.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis**. New York: Chapman And Hall, 1986.

MORENO, P.R.H.; LIMA, M.E.L.; SOBRAL, M.; YOUNG, M.C.M; CORDEIRO, I.; APEL, M.A.; LIMBERGER, R.P.; HENRIQUES, A.T. Essential oil composition of fruit

colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 64, n. 4, p. 428-432, jul/aug 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v64n4/13.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

PINTO, C. A.; BOLZANI, V. S.; SILVA, D. H. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A.. **Produtos naturais: Atualidades, desafios e perspectivas**. Química Nova, V.25, Supl.1, p. 45-61, 2002.

PIZZOLATTI, M. G., **Textos curriculares de Análise Orgânica**. Departamento de Química – UFSC, 2010.

POUCHER, W.A., A classification of odours and its uses. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**. v. 6, n. 2, p. 80-95, Apr. 1955.

RADCLIFFE-SMITH, A. **Genera Euphorbiacearum**. Kew, Royal Botanic Gardens. 464 p. 2001.

WEBSTER, G. L. A provisional synopsis of the sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). **Taxon**. v. 42, n. 4, p. 793-823, Nov. 1993

WEBSTER, G. L. Systematics of the Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v. 81, n. 1, p. 1-144, 1994.