UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

ESTUDOS ANALÍTICOS E MODIFICAÇÃO QUÍMICA POR ACETILAÇÃO
DO LINALOL CONTIDO NO ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE *Aniba*
***duckei* Kostermans**

Jamal da Silva Chaar

Tese apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo como
requisito para a obtenção do título de
Doutor em Ciências (Química
Analítica)

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice

São Carlos

2000

Toda a glória e a honra
deste trabalho deve ser
dada, antes, à pessoa de
Deus, pela provisão e por
todas as condições e
capacitações a mim
conferidas por Ele.

Dedico este trabalho

À minha mãe,
Raimunda da Silva Chaar
(in **memorian**), pelo
amor sempre presente e
pelo exemplo de vida
que foi para mim.

Ao meu pai, **Fayad**
Merched Chaar, pelo
apoio e pelos
esforços para que eu
chegasse onde estou.

Ao meu avô, **Merched**
Fayad Chaar (in
memorian), pelo
incentivo, apoio e
ensinamentos.

À minha avó,
Mirthes Merched
Chaar, pelos
ensinamentos, ajuda e
incentivos.

À minha querida e amada
esposa, **Satomi Murayama**
Chaar, pelo carinho, amor,
compreensão e

companheirismo,
especialmente nos momentos
difíceis.

Ao meu amado
filho e benção, **Joel**
Murayama Chaar, pela
alegria que tem sido
na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice**, pela orientação deste trabalho, pela amizade, paciência, compreensão e ensinamentos transmitidos durante estes anos.

Ao **Prof. Dr. Mário Sérgio Galhiane**, pela co-orientação deste trabalho, pela amizade, discussões, sugestões, confiança e ensinamentos transmitidos durante a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro**, pela amizade, discussão e colaboração prestada na realização deste trabalho.

À amiga **Márcia Rigo**, pela atenção, paciência e carinho.

Ao amigo, **Prof. Paulo Couceiro**, pela amizade, apoio e esforços para enviar as amostras vegetais.

À **Universidade do Amazonas**, pela liberação concedida e em especial aos professores do **Departamento de Química**, que não mediram esforços para a realização deste trabalho.

Ao **Laboratório de Química Analítica e Cromatografia** da UNESP-Bauru, pela contribuição na parte experimental cromatográfica.

Ao **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)**, pelo fornecimento das amostras vegetais da planta estudadas.

Ao **Centro de Análises Químicas Instrumentais (CAQI)** da USP-São Carlos, pela ajuda prestada nas análises.

Ao **Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear** da UFSCar, pelas análises de RMN ^{13}C .

Ao **Dr. Antonio Carlos Siani** da **FIOCRUZ** e ao **Dr. Idevar Passos** da **Dierberger Indústria de Óleos Essenciais S.A.**, pelo fornecimento dos padrões.

Ao amigo **Prof. Victor Elias Mouchrek Filho**, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho, pelas valiosas discussões e acima de tudo, amizade e companheirismo.

À amiga **Denise Domingos pela amizade**, pela ajuda e discussões, especialmente na parte cromatográfica.

À amiga **Suzete Breviglieri**, pela ajuda e discussões, especialmente na parte termoanalítica.

Ao amigo **Prof. Gilmar Trindade**, pela amizade, pelas discussões, em especial na parte cinética.

Aos Amigos do Laboratório de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros: **Victor, Patrícia, Susete, Denise, Hélio, Cristiane, Edna, Valéria, Adriana, Thiago, Marcelo, Daniel, Clarice, Ana Paula Inocentinni, Ana Paula Seleguini, Luiz, Salvador e Toninho** , pela amizade e companheirismo, que me proporcionaram um ambiente alegre, durante estes anos.

À **Secretaria de Pós-Graduação do IQSC**, pelo atendimento sempre atencioso.

Às funcionárias da **Biblioteca** do IQSC que sempre atenderam com paciência e presteza e a todos os amigos e funcionários da **USP** pelo agradável convívio.

À **CAPES-PICDT/UA** pela bolsa de estudos concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURA OU SIGLAS.....	vi
LISTA DE SÍMBOLOS.....	viii
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	3
1.1. Noções sobre óleos essenciais.....	4
1.1.1. Definições e Características.....	4
1.1.2. Aplicações.....	6
1.1.3. Análises dos Componentes.....	7
1.2. Óleo Essencial da Espécie <i>Aniba duckei</i> Kostermans.....	8
1.2.1. Constituição e Características.....	8
1.2.2. Acetilação do Óleo Essencial.....	9
1.2.2.1. Aspectos do Equilíbrio Químico da Reação.....	10
1.2.2.2. Aspectos Cinéticos da Reação.....	10
1.2.3. Exploração do Óleo Essencial.....	11

1.3. Aspectos da Espécie <i>Aniba duckei</i> Kostermans.....	13
1.3.1. Identificação Botânica pela Excicata.....	14
1.4. Métodos de Extrações de Óleos Essenciais.....	15
1.4.1. Enfloração.....	15
1.4.2. Prensagem.....	15
1.4.3. Extração com Solventes Orgânicos.....	16
1.4.4. Extração por Fluido Supercrítico.....	16
1.4.5. Arraste por Vapor D'água.....	16
1.5. Efeito “salting out” na Redestilação do Hidrolato.....	17
1.6. Técnicas Analíticas.....	20
1.6.1. Cromatografia Gasosa.....	20
1.6.2. Métodos Espectroscópicos.....	23
1.6.2.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta.....	23
1.6.2.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	24
1.6.2.3. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas.....	25
1.6.2.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C.....	26
1.6.3. Métodos Eletroquímicos.....	27
1.6.3.1. Voltametria Cíclica.....	28
1.6.4. Análise Térmica.....	28
1.6.4.1. Calorimetria Exploratória Diferencial.....	29
1.7. Métodos de Quantificação.....	30
1.7.1. Método do Padrão Externo.....	30
1.7.2. Método de Adição Padrão.....	31
1.7.3. Método do Padrão Interno.....	31

1.7.4. Método de Normalização.....	32
1.8. Objetivos.....	32
2. EXPERIMENTAL.....	35
2. EXPERIMENTAL.....	37
2.1. Equipamentos, Materiais e Acessórios.....	37
2.1.1. Moinho Elétrico.....	37
2.1.2. Refratômetro.....	37
2.1.3. Balança Analítica.....	37
2.1.4. Extrator de Clevenger.....	38
2.1.5. Sistema de Esterificação.....	38
2.1.6. Calorimetria Exploratória Diferencial.....	39
2.1.7. Análises Espectroscópicas.....	40
2.1.7.1. Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta.....	40
2.1.7.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....	40
2.1.7.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C	41
2.1.7.4. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas.....	41
2.1.8. Cromatografia Gasosa.....	41
2.1.9. Voltametria Cíclica.....	42
2.2. Procedimento Experimental.....	43
2.2.1. Origem e Coleta do Material Vegetal.....	43
2.2.2. Preparo das Exsiccatas.....	43
2.2.3. Extração do Óleo Essencial.....	44
2.2.3.1. Determinação do Tempo de Extração.....	44
2.2.3.2. Extração do Óleo Essencial com Força Iônica Controlada.....	44
2.2.3.3. Extração do Óleo Essencial em Diferentes Constantes Dielétricas	45

2.2.4. Padrões.....	45
2.2.5. Determinações Físicas.....	46
2.2.5.1. Densidade.....	46
2.2.5.2. Solubilidade em Álcool 70 %.....	46
2.2.5.3. Índice de Refração.....	46
2.2.5.4. Ponto de Ebulição.....	46
2.2.6. Análises Espectroscópicas.....	47
2.2.6.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta.....	47
2.2.6.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	47
2.2.6.3. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas.....	47
2.2.6.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C.....	48
2.2.7. Análise Eletroquímica por Voltametria Cíclica.....	48
2.2.8. Quantificação de Linalol e Acetato de Linalila por CG.....	49
2.2.9. Quantificação de Linalol no Hidrolato por CG.....	49
2.2.10. Acetilação do Óleo Essencial.....	50
2.2.10.1. Reação de Acetilação.....	50
2.2.10.2. Cinética da Reação de Acetilação.....	51
2.2.10.3. Variação da Temperatura de Reação.....	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
3.1. Identificação da <i>Aniba duckei</i> Kostermans pela sua Exsicata.....	55
3.2. Propriedades Físicas do Óleo Essencial.....	57
3.3. Análise Térmica do Óleo Essencial.....	58
3.3.1. Calorimetria Exploratória Diferencial.....	58

3.4. Análises Espectroscópicas do Óleo Essencial.....	61
3.4.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta.....	62
3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	63
3.4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C	65
3.4.4. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas.....	68
3.5. Análise do Óleo Essencial e seu Hidrolato por CG.....	72
3.5.1. Cromatografia do Óleo Essencial.....	72
3.5.2. Cromatografia do Hidrolato.....	73
3.6. Análise do Óleo Essencial por Voltametria Cíclica.....	75
3.7. Extração do Óleo Essencial e Quantificação do Linalol.....	76
3.7.1. Determinação do Tempo de Extração.....	76
3.7.2. Rendimento do Óleo Essencial e seu Conteúdo de Linalol.....	82
3.7.3. Extração com Força Iônica Controlada.....	85
3.7.4. Extração com Mudança na Constante Dielétrica do Meio.....	90
3.8. Reação de Acetilação do Óleo Essencial.....	93
3.9. Propriedades Físicas do Óleo Essencial Acetilado.....	94
3.10. Análises Espectroscópicas do Óleo Essencial Acetilado.....	94
3.10.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	94
3.10.2. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas.....	96
3.11. Análise Cromatográfica Quantitativa do Acetato de Linalila.....	101
3.12. Aspectos Cinéticos da Reação de Acetilação.....	102
3.13. Variação da Temperatura de Reação.....	106
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	109
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	111
4.1. Perspectivas de Trabalhos Futuros.....	114

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
CURRICULUM VITAE RESUMIDO.....	125

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fórmula molecular de: (A) linalol e (B) Acetato de linalila.	9
FIGURA 2	Árvores plantadas em área de cultivo do Pau Rosa na Reserva Florestal Ducke – Manaus / AM.	13
FIGURA 3	Curva logaritmizada do coeficiente de atividade em função da força iônica.	19
FIGURA 4	Sistema Clevenger modificado para extração de óleo essencial.	38
FIGURA 5	Sistema de esterificação para reação de acetilação.	39
FIGURA 6	Suporte com saída capilar para amostra DSC.	40
FIGURA 7	Exsicata da espécie <i>Aniba duckei</i> Kostermans.	56
FIGURA 8	Curvas termoanalíticas de DSC: (A) Óleo essencial das folhas, (B) óleo essencial de galhos finos, (C) óleo essencial da destilaria e (D) padrão de linalol.	59
FIGURA 9	Espectros de absorção no UV: (A) padrão de linalol. (B) óleo essencial extraído de folhas, (C) óleo essencial extraído de galhos finos e (D) mistura etanol/água a 60 %.	63
FIGURA 10	Espectro na região do infravermelho de: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos e (C) padrão de linalol.	64
FIGURA 11	Espectros de ressonância magnética nuclear de ¹³ C para: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos e (C) padrão de linalol.	67
FIGURA 12	Cromatogramas de: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos; (C) padrão de linalol. Tempo de retenção do pico 1: 4,3 min. Condições: Coluna LM 100 HMW de polietilenoglicol entrecruzada (10m X 0,18mm ID X 0,20µm de espessura de filme); razão de espalhamento (S _R) 1:43. Temperatura programada de 80 °C a 7 °C min ⁻¹ até 150 °C depois a 12 °C min ⁻¹ até 250 °C.	70

FIGURA 13	Espectros de massas de (A) composto do pico 1 do cromatograma A, FIGURA 11; (B) Composto do pico 1 do cromatograma B, FIGURA 11 e (C) padrão de linalol.	71
FIGURA 14	Cromatogramas de: (A) hidrolato puro; (B) padrão de linalol saturado em água; (C) água destilada. Tempo de retenção do pico 1: 2,4 min. Condições: Coluna POLYH4-MD de poliuretana de mamona (7m X 0,25mm ID X 0,21µm de espessura de filme); razão de espalhamento (S_R) 1:43. Temperatura programada de 70 °C a 5 °C min ⁻¹ até 95 °C depois a 17 °C min ⁻¹ até 250 °C (1 min).	74
FIGURA 15	Voltamograma cíclico do óleo essencial extraído da destilaria, registrado em eletrólito suporte (etanol/tampão a 60 %), pH 3,3; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	76
FIGURA 16.	Variação do rendimento de óleo essencial em função do tempo de extração, considerando como 100 % o conteúdo máximo de óleo extraído nas condições do item 2.2.3.1.	77
FIGURA 17	Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,76; 1,52; 2,27 e 3,03 mol L ⁻¹ . 10 ⁻¹ , para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial em função do tempo de extração.	79
FIGURA 18	Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 5,64 . 10 ⁻⁴ ; 1,13 . 10 ⁻³ ; 1,69 . 10 ⁻³ ; 2,26 . 10 ⁻³ ; 2,82 . 10 ⁻³ ; 5,64 . 10 ⁻³ ; 1,13 . 10 ⁻² e 1,69 . 10 ⁻² mol L ⁻¹ , para a determinação das concentrações do linalol no hidrolato em função do tempo de extração e da força iônica.	79
FIGURA 19	Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função do tempo de extração.	80
FIGURA 20	Variação das concentração de linalol no hidrolato em função do tempo de extração.	81
FIGURA 21	Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,85; 1,41; 2,82 e 4,23 mol L ⁻¹ . 10 ⁻³ , para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial extraído de folhas e galhos finos e da destilaria.	83
FIGURA 22	Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função da força iônica.	86
FIGURA 23	Variação da concentrações de linalol do hidrolato em função da força iônica.	87
FIGURA 24	Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,28; 0,56; 0,85 e 1,12 mol L ⁻¹ . 10 ⁻⁴ , para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial extraído em função da força iônica.	88

FIGURA 25	Variação do rendimento de óleo essencial em função da mudança da constante dielétrica do meio, pela concentração etanólica.	91
FIGURA 26	Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função da mudança da constante dielétrica do meio, pela concentração etanólica.	92
FIGURA 27	Reação de acetilação do linalol do óleo essencial da <i>Aniba duckei</i> K. pelo anidrido acético, mediante o acetato de sódio sob temperatura de 120 °C.	93
FIGURA 28	Espectros na região do infravermelho de: (A) óleo de destilaria antes da acetilação; (B) óleo acetilado nas condições descritas no item 2.9 e (C) padrão autêntico de acetato de linalila.	95
FIGURA 29	Cromatogramas do óleo essencial: (A) antes da acetilação, (B) após a acetilação e (C) padrão acetato de linalila. Os tempos de retenção dos picos 1, 1, 2 e 2 são, respectivamente,: 4,3, 3,9, 4,1 e 4,1 min. Condições: coluna LM100 de polietilenoglicol entrecruzada (10m X 0,18mm ID X 0,20µm de espessura de filme); razão de divisão (S_R) 1:43. Temperatura programada: cromatograma A, 80° a 7° C min ⁻¹ até 150° C e depois à 12° C min ⁻¹ até 250° C (1 min); cromatogramas B e C, 80 ° a 10 °C min ⁻¹ até 118 °C, depois a 2° C min ⁻¹ até 121 °C e a 15 °C min ⁻¹ até 250° C (1 min).	98
FIGURA 30	Espectros de massas de: (A) composto do pico 1 dos cromatogramas A e B da FIGURA 29; (B) composto do pico 2 dos cromatograma B da FIGURA 29 e (C) padrão de acetato de linalila, pico 2 do cromatograma C da FIGURA 29.	100
FIGURA 31	Rearranjo de McLafferty.	101
FIGURA 32	Curva analítica do acetato de linalila nas concentrações 0,89; 1,77; 2,66 e 3,54 mol L ⁻¹ . 10 ⁻³ , para a determinação do acetato de linalila formado na reação de acetilação.	102
FIGURA 33	Curvas de decaimento de linalol (A) e de formação do acetato de linalila (B) na reação de aceilação a 120 °C.	103
FIGURA 34	Curva logarítmica da concentração de linalol em função do tempo de reação.	105
FIGURA 35	Curva exponencial da concentração de linalol em função do tempo de reação.	106
FIGURA 36	Variação da concentração de acetato de linalila em função da temperatura.	107

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Propriedades físicas dos óleos essenciais extraídos de folhas e galhos finos das coletas em estação chuvosa (janeiro/1998) e estação seca (outubro/1998) e da destilaria.	58
TABELA 2	Valores da temperatura de ebulição e correspondentes entalpias dos óleo essenciais extraídos de folhas secas e galhos finos, da destilaria e do linalol padrão.	61
TABELA 3	Principais bandas de absorção e modos vibracionais do padrão de linalol e do óleo essencial na região do infravermelho.	65
TABELA 4	Valores de deslocamentos químicos (δ) de ^{13}C do linalol na literatura, no padrão autêntico e no óleo essencial (a partir do TMS) com suas respectivas multiplicidades.	68
TABELA 5	Valores do tempo de extração, rendimento de óleo essencial (considerando 100 % o conteúdo máximo de óleo extraído nas condições do item 2.2.3.1.) e conteúdo de linalol no óleo e no hidrolato. Manteve-se constante a massa de 50 g de folhas secas para as extrações.	78
TABELA 6	Valores do tempo de extração e concentração de linalol no hidrolato. Manteve-se constante a massa de 50 g de folhas secas para as extrações.....	82
TABELA 7	Valores de rendimento do óleo essencial e concentração de linalol extraído de uma massa de 50 g de folhas secas, galhos finos e lenho e da Destilaria de Presidente Figueiredo.	84
TABELA 8	Valores da variação de rendimento do óleo essencial e seu conteúdo de linalol extraído na presença de diferentes forças iônicas. A massa de folhas da qual foi extraído o óleo foi fixada em 50 g.	89
TABELA 9	Valores da variação de rendimento do óleo essencial e seu conteúdo de linalol extraído em diferentes constantes dielétricas (concentração etanólica). A massa de folhas da qual foi extraído o óleo foi fixada em 50 g.	92

TABELA 10	Propriedades físicas dos óleos essenciais acetilados nas condições do item 2.2.10.1.	94
TABELA 11	Principais bandas de absorção e modos vibracionais do óleo acetilado e do padrão acetato de linalila na região do infravermelho.	96
TABELA 12	Valores das áreas dos picos cromatográficos de linalol e acetato de linalila na reação de acetilação.	104
TABELA 13	Valores da concentração de acetato de linalila formado em função do aumento da temperatura de reação.	108

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Ag/AgCl	Prata/Cloreto de prata
BR	Britton – Robinson
E	Potencial de pico
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa-Espectroscopia de Massas
CGS	Cromatografia gás-sólido
CGL	Cromatografia gás-líquido
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
FID	Detector de Ionização de Chamas
ESC	Eletrodo Saturado de Calomelano
ENDO	Endotérmico
EM	Espectrometria de Massas
HMW	Alto peso molecular
IE	Impacto de Elétrons
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
ISO	Organização Internacional de Padrão
IV	Infravermelho

k	Coeficiente salting
k _{obs}	Constante de velocidade observada
K _{ps}	Constante do produto de solubilidade
LM	Lanças & Mário
m/m	Massa/massa
m/z	Massa/carga
P.I.	Padrão Interno
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono13
S	Solubilidade
SUDAM	Superintendência para o Desenvolvimento da Amazônia
tpre	Tempo de preconcentração
TMS	Tetrametil silano
UV	Ultravioleta
UA	Universidade do Amazonas
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
UNESP	Universidade Estadual Paulista
Vis	Visível
VC	Voltamograma Cíclico

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Atividade
A	Coeficiente linear
B	Coeficiente angular
cm	Centímetro
cm ⁻¹	Número de ondas
eV	Elétrons volts
g	Grama
g mL ⁻¹	Grama por mililitro
h	Horas
ID	Diâmetro Interno
J	Joule
J g ⁻¹	Joule por grama
L	Litro
[L]	Concentração de Linalol
m	Metro
MHz	MegaHertz
mg	Miligrama

min	Minutos
mL	Mililitro
mL min ⁻¹	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
M ⁺	Íon Molecular
M ^{*+}	Cátion Radical
mol L ⁻¹	Mol por litro
mV	Milivolts
mV s ⁻¹	Milivolt por segundo
n	Número de pontos
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
R	Coeficiente de correlação
s	Segundo
SD	Desvio padrão
S _R	Razão de divisão
V	Volt
v	Volume
W	Watts
W g ⁻¹	Watt por grama
μ	Força iônica
$\bar{\mu}$	Velocidade linear média
μm	Micrometro

μL	Microlitro
λ_{max}	Comprimento de onda máximo
γ	Coeficiente de atividade
δ	Deslocamento químico
$^{\circ}\text{C}$	Graus Célsius
$^{\circ}\text{C min}^{-1}$	Graus Célsius por minuto

RESUMO

No presente estudo o óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans (Pau Rosa) cultivada em ambiente natural foi extraído quantitativamente, por hidrodestilação, de folhas secas e galhos finos. Foram determinadas propriedades físicas e químicas e o rendimento, incluindo o estudo do tempo de extração, da extração com força iônica controlada e com várias constantes dielétricas. Promoveu-se a acetilação do óleo essencial para obtenção do acetato de linalila e verificou-se aspectos cinéticos da reação. As técnicas de espectroscopia no ultravioleta, infravermelho, de massas e ressonância magnética nuclear de ^{13}C foram empregadas para a identificação do componente mais abundante e seu derivado, pela modificação química. Usou-se a cromatografia gasosa para a quantificação, pelo método do padrão externo, do principal componente e de seu derivado obtido por acetilação. Os valores das propriedades físicas determinadas estão concordantes com aqueles encontrados nas espécies nativas. Os rendimentos médios foram de 1,3 e 1,2% para folhas secas e galhos finos, respectivamente. Os espectros no IV, RMN ^{13}C e EM confirmaram a presença majoritária do linalol. A concentração deste foi de 72,3 e 78,1 % no óleo essencial extraído de folhas secas e galhos finos, respectivamente. No óleo essencial adquirido da Destilaria de Presidente Figueiredo/AM (extraído da madeira) a concentração foi de 90,3 %. Obteve-se pela acetilação do óleo essencial da destilaria 49,0 % de acetato de linalila, fornecendo 54% de rendimento. Os resultados obtidos mostraram uma grande possibilidade para a exploração do óleo de folhas e galhos finos, com a incisão de alto valor agregado neste produto.

ABSTRACT

In the present study the essential oil of the *Aniba duckei* Kostermans (Pau Rosa) cultivated in natural environment was extracted quantitatively, by hidrodistillation, from dry leaves and small branches. Physical and chemical properties and the yield of essential oil were determined. The study of the time of extraction, extraction with controlled ionic strength and with several dielectrics constant were done. Acetilation of the essential oil was promoted to obtain the linalyl acetate and kinetic aspects of the reaction were verified. The spectroscopic techniques in the ultraviolet, infrared, of masses and nuclear magnetic resonance of ^{13}C were used for the identification of the major component and its derivatives. The gas chromatography was used for the quantification, by the method of the external standard, of the major component and its derived obtained by acetilation. The values of the physical properties are according to ones found in the native species. The medium yield were 1,3 and 1,2% for dry leaves and small branches, respectively. IR, RMN ^{13}C and MS spectra confirmed the majority presence of the linalool. Its concentration was 72,3 and 78,1% in the extracted essential oil of dry leaves and small branches, respectively. In the essential oil acquired of the Distillery in Presidente Figueiredo/AM (extracted from wood) the concentration was 90,3%. The linalyl acetate obtained by acetilation of the essential oil from distillery was 49,0%, supplying 54% of yield. The obtained results showed a great possibility for the exploration of the oil from leaves and small branches, with the incision of high value joined in this product.

---

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A grande extensão da Amazônia e sua posição no Trópico Úmido conferem à região potenciais energéticos e econômicos de alta relevância. A Floresta Amazônica abriga a mais notável e diversificada fonte de produtos naturais do planeta. Devido à grande biodiversidade existente na região, pesquisas em produtos florestais são necessárias para o fornecimento de informações científicas para apoiar políticas de desenvolvimento sustentável e proteção dos ecossistemas. A flora da região amazônica apresenta uma riqueza de variedades vegetais capazes de gerar produtos que podem ser aplicáveis em diversos setores. Embora, represente apenas 7 % da superfície da Terra, as florestas tropicais contêm mais da metade das espécies da flora que os outros ecossistemas; das 250.000 espécies de plantas conhecidas, 2/3 estão nos trópicos e 1/4 na América Latina. No Brasil existem 55.000 espécies de plantas superiores (22 % do total) ^[1].

Dentro dessa biodiversidade os óleos essenciais formam uma classe de produtos naturais dos mais aproveitáveis na região amazônica. Há muito tempo vários desses produtos vêm sendo utilizados com diferentes aplicações, especialmente em aplicações medicinais, farmacológicas e cosméticas. Entretanto, estudos analíticos, usando as mais diversas ferramentas analíticas, tornam-se essencialmente necessários para a

obtenção de informações qualitativas e quantitativas precisas de suas propriedades físicas e químicas. Tais informações devem sugerir e apoiar soluções para o desenvolvimento sustentável na exploração dos óleos essenciais. Nesse contexto está inserido o óleo essencial da espécie *Aniba duckei* Kostermans, extremamente importante em várias comunidades da região amazônica pelo fato de ser, principalmente, uma fonte geradora de renda e de grande interesse nacional, devido à sua exportação, gerando divisas para o país ^[2-4].

1.1. Noções sobre Óleos Essenciais

1.1.1. Definições e Características

Os óleos voláteis ou essenciais são definidos pela Organização Internacional de Padrões (ISO) como sendo os produtos obtidos de partes de plantas por destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas a temperatura ambiente. Também podem ser chamadas de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências. Essas denominações derivam de algumas de suas características físicas, como por exemplo a de terem aparência oleosa à temperatura ambiente, advindo, daí, a designação de óleo. Entretanto, sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidas geralmente

de sementes. Outra característica importante dos óleos essenciais é o aroma agradável e intenso, sendo, por isso, também chamados de essências. São solúveis em álcoois e em solventes orgânicos comuns, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos. Em água os óleos essenciais apresentam solubilidade muito baixa, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas de hidrolatos ^[5-6].

Os óleo essenciais, normalmente, são incolores e suas densidades inferiores à da água, com algumas poucas exceções. Quase sempre são dotados de atividade óptica, com índices de refração elevados ^[5]. São princípios imediatos de origem vegetal, próprios de vários grupos de espécies.

Caracterizam-se também por se apresentarem naturalmente com muita variação de constituintes, que pertencem - de forma quase exclusiva - a duas séries de classes de compostos, caracterizadas por origens biossintéticas diferentes: a série terpênica e a série, menos frequente, dos compostos arênicos derivados de fenilpropano. Na série terpênica encontram-se unicamente os terpenos mais voláteis, cujos pesos moleculares não são demasiadamente elevados que são: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, cujos números de carbonos na cadeia são de 10, 15, 20 e 30, respectivamente. A diversidade das estruturas se explica pela grande reatividade dos carbocátions envolvidos nos processos biossintéticos. Na mistura, os compostos apresentam-se em diferentes concentrações; normalmente, um deles é um composto majoritário, existindo outros em menores concentrações e alguns em baixíssimas quantidades (traços) ^[6]. Os principais constituintes da série dos

monoterpenos, os mais comuns nos óleos essenciais, são hidrocarbonetos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos ou policíclicos e, menos frequentemente, compostos aromáticos. São acompanhados de seus derivados oxigenados: álcoois, aldeídos, cetonas ésteres e éteres ^[7].

1.1.2. Aplicações

Os óleos essenciais ocupam um lugar preponderante nos mercados de farmácia, perfumaria, cosméticos, nas indústrias agro-alimentícias e, mais recentemente, na medicina alternativa, como aromaterápicos. São largamente usados em muitas indústrias para conferir aromas especiais em inúmeros produtos, tais como perfumes, cosméticos, sabonetes, condimentos, etc ^[8-11]. São empregados também para mascarar odores desagradáveis em ambientes de trabalho e instalações sanitárias, além de serem usados como insumos em diversos produtos das indústrias de plásticos, tintas, borrachas, inseticidas e outras ^[8,12]. Muitos desses óleos fornecem compostos de partida para a síntese de outras substâncias úteis nas indústrias farmacêuticas e de transformação ^[8,13-17]. Outros componentes têm propriedades farmacológicas e são usados como analgésicos ^[16,18-19], bactericidas ^[8,20], sedativos ^[8], expectorantes ^[8], reumáticos ^[32] e estomáquicos ^[32] na composição de diversos medicamentos.

Além dos óleos essenciais obtidos de plantas (fitogênicos), produtos sintéticos são encontrados no mercado. Esses óleos sintéticos podem ser imitações dos naturais, porém de constituição limitada em relação à

diversidade de compostos nos naturais. Por isso, em alguns setores, como por exemplo na indústria cosmética, há uma preferência pelo produto natural, pois o sintético não confere as mesmas propriedades do natural, principalmente no que se refere ao aroma. Para o uso farmacêutico, somente os naturais são sugeridos pelas farmacopéias. Exceções são aqueles óleos que contém somente uma substância, como o óleo essencial de baunilha (que contém vanilina). Nesses casos, algumas farmacopéias sugerem também os equivalentes sintéticos ^[5-6].

1.1.3. Análises dos Componentes

A análise química de separação e identificação dos constituintes dos óleos, é feita por meio das técnicas de Cromatografia Gasosa (CG), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ^[21-25] e Espectroscópicas, dentre as quais as mais freqüentes são a Espectroscopia na região do Ultravioleta (UV), do Infravermelho (IV), de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) e de Carbono 13 (RMN ¹³C) e a Espectroscopia de Massas (EM), além do uso de bibliotecas contendo informações de um grande número de substâncias já conhecidas ^[2,7-9,13-14, 26].

1.2. Óleo Essencial da Espécie *Aniba duckei* Kostermans

1.2.1. Constituição e Características

O óleo essencial da espécie *Aniba duckei* Kostermans, conhecida popularmente como Pau Rosa, é comumente caracterizado pelo forte odor, incoloração e densidade inferior à da água, sendo geralmente solúvel em solventes orgânicos usuais e em álcool 70 % ^[2]. É normalmente usado por populações locais na Amazônia para o tratamento de doenças reumáticas e de outras naturezas. Na indústria cosmética é muito utilizado, principalmente, na produção de perfumes ^[2].

O linalol (FIGURA 1) é o constituinte majoritário do óleo da *Aniba duckei* Kostermans ^[27]. Outros componentes minoritários fazem parte da composição do óleo essencial, tais como o α -terpineol, 1,8-cineol e α -pineno ^[27]. O linalol é um monoterpene alcoólico terciário de cadeia aberta. Pode ser encontrado normalmente sob a forma de uma mistura de isômeros de posição da primeira ligação dupla. Possui um átomo de carbono assimétrico e, por isso, é opticamente ativo. Apresenta-se dessa forma em várias espécies ^[3]. Tem sido largamente usado como composto de partida para várias sínteses importantes, como a do acetato de linalila ^[28], e testado como acaricida ^[29], bactericida e fungicida ^[30]. Na medicina, tem sido aplicado, com sucesso, como sedativo ^[31-32] e, atualmente, estão sendo analisadas as suas propriedades anticonvulsivas ^[33]. Assim, o linalol possui uma larga aplicação em várias áreas do conhecimento humano, sendo necessária a sua produção em quantidades sempre crescentes. Uma característica singular

do linalol no óleo é a sua racemização ^[34-35], o que não acontece na maioria das espécies. Isto deve ser determinante nas suas propriedades físicas e químicas.

FIGURA 1. Fórmula molecular de: (A) linalol e (B) Acetato de linalila.

1.2.2. Acetilação do Óleo Essencial

A modificação química promovida no linalol do óleo essencial do Pau Rosa torna possível a obtenção de um produto derivado, como o acetato de linalila (FIGURA 1), de alto valor agregado. Em função da sua grande capacidade de fixação, é muito utilizado no mundo inteiro, na indústria cosmética, como fixador de aroma em perfumes ^[28]. O óleo essencial vem sendo quase totalmente exportado “in natura”, o qual alcança no mercado internacional baixo valor agregado. Considerando o valor agregado ao produto bruto, por meio de modificação química do linalol para o respectivo acetato, seria interessante a implementação de projetos que viabilizassem a exportação desta rica matéria prima.

1.2.2.1. Aspectos do Equilíbrio Químico da Reação

A acetilação do óleo essencial com anidrido acético na presença de acetato de sódio anidro proporciona uma reação cujo equilíbrio químico se desloca no sentido da formação do acetato de linalila ^[28] em grande concentração, considerando o linalol como sendo o componente majoritário, gerando um meio fortemente ácido, pela liberação do ácido acético. Para controlar essa acidez é necessário um agente tamponante, normalmente uma base do ácido liberado. Neste caso, o acetato de sódio irá agir como tal.

1.2.2.2. Aspectos Cinéticos da Reação

A cinética é um aspecto importante da reação de acetilação do linalol, além do aspecto do equilíbrio químico. Pela cinética é possível verificar o melhor tempo de reação, sua constante de velocidade (k), o tempo de meia vida ($1/k$) e a energia de ativação do sistema, por meio de cinéticas em várias isotermas ^[36]. Considerando a simplicidade da molécula de linalol com, praticamente, um único sítio ativo para a acetilação e o excesso de reagentes empregado para a reação pode-se considerá-la como sendo de pseudoprimeira ordem. Todos esses dados são extremamente importantes para o processo industrial da reação.

Considerando a reação como sendo de pseudoprimeira ordem a sua cinética pode ser tratada matematicamente pela equação:

$$-d[L]/dt = k_{obs}[L] \quad (1)$$

Integrando a equação (1) isotermicamente e considerando que a $t = 0$, a concentração $[L]_t = [L]_0$, tem-se:

$$\ln[L]_t = -k_{\text{obs}}t + \ln[L]_0 + C$$

Onde $[L]$ é a concentração de linalol residual, $[L]_0$ é o teor de linalol no tempo 0, k_{obs} é a constante de velocidade observada e C é a constante de integração.

1.2.3. Exploração do Óleo Essencial

A exploração do Pau Rosa para extração de seu óleo essencial tem sido executada desde 1911 ^[2], desempenhando uma importante função econômica da região amazônica devido à alta concentração de linalol na constituição química do óleo e, por isso, tendo sido considerado, naquele tempo, a principal fonte mundial desse componente. A exploração desenvolveu-se, entretanto, de forma rápida e desordenadamente a partir de 1920, a ponto de em 1927, das 200 toneladas produzidas 80 não encontrarem mercado consumidor. Na década de 40 este produto ocupou o terceiro lugar na pauta de exportações da Amazônia, segundo a SUDAM ^[39]. A exploração diminuiu bastante a partir de 1952. Em 1955 a produção do óleo de Pau Rosa brasileiro atingiu a quase quinhentas toneladas anuais. Em meados dos anos 60 a produção brasileira ficou em torno de algumas centenas de toneladas anuais. Até o ano de 1969 existiam 53 usinas de destilação conhecidas, sendo 3 no estado do Pará e 50 no Amazonas. Em 1971 apenas 20 usinas estavam em funcionamento, sendo 7 no Pará e 13 no Amazonas. Em 1995 a produção ficou em torno de 130 toneladas por ano

[2]. Atualmente menos de 15 % do óleo de Pau Rosa é industrializado no Brasil e o restante é exportado para os Estados Unidos, Japão, França, Holanda e Inglaterra e Suíça [4].

A extração, para fins de comercialização, é feita com a madeira reduzida a cavacos, por meio de arraste por vapor. O rendimento da extração oscila em torno de 1 kg de óleo por 100 kg de lenho, contendo de 80 a 95 % de monoterpenos alcoólicos, dos quais o linalol é o componente predominante [4]. Assim, nesse processo há um grande desperdício. Apesar da síntese desse componente ser possível, a indústria, principalmente cosmética, prefere o produto natural ao sintetizado. Provavelmente, devido às melhores qualidades aromáticas.

Como consequência de todo esse processo de exploração, o óleo tem se tornado cada vez mais escasso devido às dificuldades de se encontrar espécies nativas para o corte serem cada vez maiores, deixando-o com um preço, em relação ao sintético, mais alto. A normalização de leis proibindo a exploração em determinadas áreas, para evitar o desequilíbrio ecológico também dificulta a sua continuidade. Assim, a produção do óleo essencial está seriamente comprometida. Neste caso, é necessário novos projetos alternativos que visem a produção desta rica fonte de linalol a partir da *Aniba duckei* K. A extração do óleo de folhas e galhos finos é discutida, neste estudo, como alternativa, que pode ser viabilizada por meio de manejo florestal apropriado, sem sacrificar as plantas nativas. As espécies nativas podem ser cultivadas e melhoradas, pois atualmente existem estudos de tecnologias para tornar isso viável. O rendimento do óleo extraído de folhas frescas de espécies nativas pode chegar a até 2,4 %, o que é excelente

comparado com outras espécies aromáticas, dando até 90 % de linalol ^[40]. Algumas árvores estão sendo cultivadas na Reserva Florestal Ducke / Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus - AM – Brasil, as quais foram objetos de pesquisa neste estudo.

1.3. Aspectos da Espécie *Aniba duckei* Kostermans

FIGURA 2. Árvores plantadas em área de cultivo do Pau Rosa na Reserva Florestal Ducke – Manaus / AM.

A *Aniba duckei* Kostermans (FIGURA 2), última classificação do Pau Rosa amazônico, é uma espécie florestal nativa da região amazônica, da família das Lauráceas. Sua árvore pode atingir até 30 m de altura e 1 m de diâmetro de seu tronco em floresta primária, tendo sua ocorrência natural ao sul e ao norte do Rio Amazonas. Tem casca pardo-avermelhada, folhas semicoriáceas, lisas e inflorescência em panículas multiforas delicadas. As flores são ferrugíneas e o fruto é uma drupa, de 2 a 3 cm de comprimento, com cúpula bastante espessa. O tipo de vegetação onde ocorre é de floresta tropical úmida de terra firme ^[37-38].

1.3.1. Identificação Botânica pela Excicata

As excicatas são importantes instrumentos (talvez os mais importantes) para a identificação botânica de plantas. São amostras ou cópias autênticas de partes da planta, contendo estruturas vegetativas e reprodutivas (podendo ter flores e/ou frutos), que servirão para a sua identificação. As excicatas são armazenadas em locais apropriados que permitem a utilização por pesquisadores sem haver necessidade de se deslocarem até o local de coleta das amostras, para estudos mais aprofundados de suas características morfológicas.

1.4. Métodos de Extrações de Óleos Essenciais

Os métodos de extração variam conforme a localização do óleo essencial na planta e com a finalidade de utilização do mesmo.

1.4.1. Enfloração

Esse método já foi muito utilizado, mas atualmente é empregado apenas por algumas indústrias de perfumaria. É principalmente aplicado em algumas plantas com baixo teor de óleo, mas de alto valor comercial. É empregado para extrair o óleo essencial de pétalas de flores; as pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante um certo tempo. Em seguida, as pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o óleo essencial, o álcool é destilado a baixa temperatura e o produto é assim obtido ^[6].

1.4.2. Prensagem

Normalmente esse método é empregado para a extração dos óleos essenciais de frutos cítricos. Os pericarpos desses frutos são prensados e a camada que contém o óleo essencial é, então, separada. Posteriormente, o óleo essencial é separado da emulsão formada com a água por decantação, centrifugação ou destilação fracionada ^[6].

1.4.3. Extração com Solventes Orgânicos

Os óleos essenciais podem ser extraídos com solventes (éter, éter de petróleo ou diclorometano). Porém, outros compostos lipofílicos são também extraídos, além do óleo essencial. Por isso, os produtos obtidos assim raramente possuem valor comercial ^[6].

1.4.4. Extração por Fluido Supercrítico

Atualmente é um dos métodos de opção para extração industrial de óleos essenciais, pois permite recuperar os aromas naturais de vários tipos, não somente óleo essencial, de modo bastante eficiente. Nenhum traço de solvente permanece no produto obtido, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos. Para tal extração, o CO₂ é primeiramente liquefeito por compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a 31 °C. Nessa temperatura, o CO₂ atinge um quarto estado, no qual sua viscosidade é analoga a de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, faz-se o CO₂ retornar ao estado gasoso, resultando na sua total eliminação ^[6, 15-17].

1.4.5. Arraste por Vapor D'água

Na indústria de óleos essenciais existem três tipos de extrações distintas de arraste por vapor d'água. Essa distinção é feita pela forma na

qual se estabelece o contato entre a amostra e a água, na fase líquida ou de vapor. A primeira é chamada de hidrodestilação, onde a amostra fica imersa na água contida numa caldeira. Na segunda, chamada de destilação pela água e vapor, a amostra permanece contida em um recipiente logo acima da água da caldeira, ficando assim separada da água. Na terceira, chamada propriamente de destilação pelo vapor de água, a amostra é mantida em um recipiente separado e o vapor de água que flui provém de um gerador próprio independente ^[5-6, 17].

A indústria utiliza, preferencialmente, a extração por vapor d'água por ser reduzido o contato da amostra com a água. Em relação aos métodos anteriores de arraste por vapor d'água, neste caso, é menos acentuada a hidrólise dos ésteres, a oxidação de componentes voláteis e a polimerização de outros constituintes, em particular dos aldeídos ^[5-7, 15-17]. A água residual desse método de extração é chamada de hidrolato, que normalmente é rica em compostos do óleo essencial solubilizados.

1.5. Efeito “*salting out*” na Redestilação do Hidrolato

A fim de reaproveitar a quantidade de óleo essencial dissolvido no hidrolato, quando há uma solubilização consideravelmente elevada, a indústria executa uma redestilação na presença de um sal. Esse processo é chamado de coação ^[5,41]. Assim, a presença do sal provoca uma força iônica, que atuará no sentido de diminuir a solubilidade do óleo por meio do efeito “*salting out*”.

Qualitativamente quando um eletrólito é adicionado na solução aquosa tem-se o efeito “*salting out*” que é exatamente a diminuição da solubilidade (S) do soluto, onde o coeficiente de atividade (γ) deve aumentar com o aumento da força iônica. É suposto que a solubilidade de um não-eletrólito em água (S_a) é maior que sua solubilidade em uma solução salina (S_s). Por definição, em ambas as soluções saturadas existe um equilíbrio com o não-eletrólito puro, desde que suas atividades (a) sejam iguais nas duas soluções. Assim, $a_a = \gamma_a S_a = a_s = \gamma_s S_s$, levando a $\gamma_s > \gamma_a$. Esse efeito é mais comumente encontrado que o efeito reverso “*salting in*”, no qual $\gamma_a > \gamma_s$. Outros efeitos específicos, isto é, interações químicas de outra natureza são fatores a serem considerados. Por exemplo, hidratação do íon, efeito eletrostático, mudança da constante dielétrica do solvente. Pela equação de Setschevow:

$$\log \gamma_0 = k \cdot \mu$$

é observado a proporcionalidade entre γ e μ (força iônica), sendo k o coeficiente salting, que depende da natureza do soluto e do eletrólito. Usualmente o k tem valores de 0,01 a 0,1 e é positivo se o soluto tem constante dielétrica mais baixa que o solvente ^[42]. A constante salting pode ser determinada traçando uma curva linearizada da atividade versus força iônica, sendo o k o coeficiente angular da curva, FIGURA 3.

FIGURA 3. Curva logaritmizada do coeficiente de atividade em função da força iônica.

Extrapolando o valor de μ a zero é obtido o γ_t , que é o coeficiente de transferência, equivalente ao coeficiente de atividade a diluição infinita. O valor de γ_t é relatado pela diferença entre as energias livres do soluto no estado padrão no solvente e no solvente de referência:

$$G_i^0(\text{solvente}) - G_i^0(\text{solvente de referência}) = RT \ln \gamma_t$$

γ_t pode ser relacionado com a constante termodinâmica e dessa forma a mesma pode ser determinada.

Assim, pelo exposto anteriormente a força iônica deve exercer uma influência significativa no processo de extração do óleo essencial e na recuperação do mesmo no hidrolato.

1.6. Técnicas Analíticas

A análise de misturas complexas de multicomponentes, como o são os óleos essenciais, requer a aplicação de métodos analíticos modernos e instrumentação adequada. As técnicas analíticas permitem a avaliação das qualidades do óleo essencial, garantindo, assim, a constância de seus constituintes químicos e a segurança de sua utilização. A avaliação quantitativa e qualitativa envolve a utilização de diversas técnicas básicas, que passaram por algumas alterações nos últimos anos, devido essencialmente à revolução da informática (programa de computadores, níveis de automação, forma de integração dos dados obtidos) e da sofisticação dos experimentos que podem ser realizados, resultando na dedução de uma estrutura coerente.

1.6.1. Cromatografia Gasosa

Diferentes técnicas cromatográficas são utilizadas na análise de compostos voláteis, em particular, a cromatografia gasosa (CG) é usada na separação da mistura em componentes individuais ^[43-48].

Esta técnica de separação baseia-se na distribuição dos componentes da amostra entre a fase estacionária (sólido ou líquido) e uma fase móvel (gás), sendo aplicada a gás e compostos volatilizáveis. O gás da fase móvel tem a finalidade de transportar as moléculas a serem separadas através da coluna, sendo por isso conhecido como gás de arraste ou gás carregador.

Dependendo da natureza da fase estacionária, a cromatografia gasosa pode ser dividida em cromatografia gás-sólido (CGS) e cromatografia gás-líquido (CGL). Na CGS a fase estacionária é um sólido de grande área superficial, usualmente um adsorvente como carvão vegetal, sílica gel ou peneira molecular. A adsorção diferencial dos componentes da mistura a ser separada sobre a superfície sólida é a base para a separação cromatográfica na CGS, a qual é geralmente empregada na separação de gases como N_2 , O_2 , CO e outros. Na CGL a fase estacionária é uma película delgada líquida, a qual recobre um sólido inerte denominado suporte. Neste caso, a fase estacionária se encontra acondicionada dentro de uma coluna, por meio da qual o gás de arraste flui continuamente. As moléculas da amostra irão distribuir-se entre o gás de arraste e a fase líquida. As espécies mais solúveis na fase líquida permanecerão menos tempo na fase gasosa e, como consequência, irão deslocar-se mais lentamente pela coluna.

Na cromatografia gasosa convencional, a qual utiliza colunas empacotadas, o processo cromatográfico é limitado pela difusão lenta das moléculas ao redor das partículas do suporte e dentro de seus poros. Atualmente a cromatografia utiliza coluna capilar que é um tubo longo, de dimensões capilares (geralmente de vidro, de metal ou de sílica fundida), onde a fase estacionária é um líquido espalhado na superfície interna da coluna, sendo esta aberta (não empacotada). Nesse tipo de coluna, o gás de arraste e as moléculas da amostra encontram um caminho aberto sem restrições ao longo da coluna. A difusão das moléculas dentro e fora da fase estacionária é muito maior do que no caso das colunas empacotadas, onde o suporte sólido funciona como um “obstáculo” à difusão da amostra e do

gás de arraste. Como consequência, as colunas capilares apresentam melhor resolução (ou seja, uma melhor separação dos componentes da amostra) e normalmente um tempo de análise menor.

O processo cromatográfico acontece ao ser introduzida a amostra na coluna através de um injetor, onde o gás de arraste flui e carrega a amostra. O componente da amostra cuja afinidade pela fase estacionária é maior, gasta mais tempo para ser eluído que aquele cuja interação é menor. Nesse processo de separação também é considerado o ponto de ebulição do componente, pois este é um fator determinante no tempo de eluição. Considerando que dois componentes de uma mistura tenham a mesma afinidade pela fase estacionária, aquele que possui maior ponto de ebulição gasta um tempo de eluição maior.

Um detector é conectado na saída da coluna, onde é constatada a eficiência da separação pelo cromatograma registrado. O detector é o principal responsável pela quantidade mínima de substância a ser detectada, a coluna pela quantidade máxima. A grande maioria dos cromatógrafos a gás em operação no mundo, são equipados com um dos seguintes detectores: condutividade térmica, ionização de chama e captura de elétrons.

Assim, a cromatografia permite determinar, qualitativa e quantitativamente, as frações individuais obtidas nos cromatogramas. Entretanto, se ocorrerem mudanças na composição no curso da cromatografia devido à, principalmente, influências térmicas, os resultados podem incorrer em erros. Para evitar esse tipo de problema é necessário o

ajuste das condições e parâmetros do método, de maneira que se obtenha a melhor resolução entre os picos e a melhor forma dos mesmos.

1.6.2. Métodos Espectroscópicos

Como alternativa para avaliações cromatográficas de compostos voláteis, podem ser usadas técnicas que proporcionam informação direta acerca da composição de uma amostra particular sem prévia separação dos componentes, isto é, os métodos espectroscópicos.

1.6.2.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta

O uso da espectroscopia na região do ultravioleta (UV) fica mais evidente relacionando-se à espectroscopia na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e à espectroscopia de massas (EM). A fim de caracterizar um composto orgânico, o químico usa, nos casos normais o IV para detectar e identificar os grupos funcionais e o RMN para determinar a disposição estrutural de prótons e carbonos. Depois de ter estabelecido pelo menos uma idéia preliminar sobre a estrutura do composto, o químico está habilitado a decidir se o UV será útil para caracterizar o composto ^[49].

A absorção molecular na região do UV e do visível (Vis) depende da estrutura eletrônica da molécula. A absorção de energia é quantizada e conduz à passagem dos elétrons de orbitais do estado fundamental para orbitais de maior energia em estado excitado. Para muitas estruturas

eletrônicas esta absorção ocorre em uma porção acessível do UV. Na prática, a espectrofotometria no UV é limitada, na maior parte, aos sistemas conjugados ^[26].

1.6.2.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho pode ser usada para obter informações acerca dos grupos funcionais da composição dos óleos essenciais, principalmente grupos contendo oxigênio, uma vez que as vibrações moleculares desses grupos são perceptíveis nessa região do espectro. Apesar de ser uma técnica altamente sensível, é pouco seletiva no caso de misturas de multicomponentes e difícil para fazer medidas quantitativas de concentrações de componentes individuais ^[49].

A espectroscopia na região do infravermelho é uma das ferramentas mais comuns para a identificação de compostos orgânicos e inorgânicos puros, pois, com exceção de poucas moléculas homonucleares, tais como O₂, N₂ e Cl₂, todas as espécies moleculares absorvem radiação no IV. A intensidade de absorção é uma função da variação do momento de dipolo envolvido na vibração. Duas categorias básicas de vibrações moleculares são conhecidas: as vibrações de deformações axiais e as de deformações angulares. Uma vibração de deformação axial (estiramento) envolve uma mudança contínua na distância interatômica ao longo do eixo da ligação entre dois átomos. Vibrações de deformação angular são caracterizadas pela mudança no ângulo entre duas ligações. O espectro IV é obtido depois que uma Transformação de Fourier converte o interferograma do domínio do

tempo à forma mais familiar do domínio de frequências. O interferograma é uma série oscilatória de combinações destrutivas ou construtivas, resultando de uma variação completa de comprimentos de onda ^[26,50].

1.6.2.3. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas

Existe no mercado várias empresas que oferecem o conjunto cromatográfico de gás-espectroscopia de massas (CG-EM), acoplado através de uma interface que aumenta a concentração da amostra no gás de arraste, aproveitando a maior difusibilidade do gás. A velocidade de varredura é grande o suficiente para permitir a obtenção de diversos espectros de massas por pico eluído no cromatógrafo ^[51]. A conexão direta de colunas capilares de cromatografia gasosa ao espectrômetro de massas sem a interface de enriquecimento permite várias varreduras de massas rápidas em pontos diferentes de um pico cromatográfico, de modo a testar sua homogeneidade. Desse modo, é possível resolver picos cromatográficos parcialmente superpostos. Assim, a espectrometria de massas acoplada à cromatografia gasosa fornece as fragmentações dos componentes individuais separados ^[52].

Na técnica de impacto de elétrons (IE), mais comumente usada em espectrometria de massas, um espectrômetro de massas bombardeia moléculas na fase vapor com um feixe de elétrons de alta energia e registra o resultado do impacto dos elétrons como um espectro de íons separados na base da razão massa/carga (m/z). A maior parte dos íons formados tem carga unitária. Os espectros de massas são obtidos rotineiramente com o

uso de um feixe eletrônico de energia de 70 eV. O evento mais simples que pode ocorrer na fase gasosa é a remoção de um único elétron pelo feixe, com formação do íon molecular, um cátion-radical ($M^{\bullet+}$). O ponto simples representa o elétron desemparelhado. A maior parte dos íons desintegra-se em 10^{-10} a 10^{-3} s, dando, no caso mais simples, um fragmento carregado positivamente e um radical. Assim, forma-se um certo número de fragmentos iônicos que podem ser posteriormente decompostos em fragmentos menores^[26].

Pode-se apresentar o espectro na forma de um gráfico ou uma tabela. O gráfico tem a vantagem de mostrar seqüências de fragmentação que com a prática podem ser facilmente reconhecidas. No espectro de massas por impacto de elétrons, gerado por um computador na forma de um gráfico de barras, a abundância relativa dos picos, apresentada como percentagem do pico base (100 %), é lançada contra a razão massa/carga (m/z).

1.6.2.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C

A espectroscopia de RMN é uma das ferramentas mais valiosas para a determinação estrutural de compostos orgânicos, contribuindo para o estabelecimento do esqueleto da molécula. Para a obtenção dos espectros de ressonância, submete-se a amostra a um campo magnético externo, de forma que determinados núcleos que apresentam um momento magnético nuclear (núcleos com número de massa ímpar como ^1H , ^{13}C , ^{31}P , por exemplo) podem entrar em ressonância com a radiofrequência aplicada, absorvendo a energia eletromagnética em frequências características para

cada núcleo, conforme sua vizinhança química. Os dados obtidos com esse método espectroscópico são muito importantes para a elucidação estrutural de praticamente todas as classes de produtos naturais, incluindo os metabólitos secundários vegetais. Os espectros de RMN de próton (RMN ^1H) e de carbono 13 (RMN ^{13}C) são os mais utilizados e a sua interpretação permite caracterizar o número e o tipo de átomos de H e C, em função da localização e do desdobramento dos sinais correspondentes à absorção da energia eletromagnética. A grande variedade de técnicas disponíveis de RMN (COSY, NOESY, HETCOR, HMBC, INEPT, INADEQUATE, COLOC, entre outras) permite identificar a proximidade espacial ou mesmo a conectividade de alguns átomos em particular, auxiliando dessa maneira, na montagem do “quebra-cabeça” constituídos pelas diferentes partes da molécula [6].

1.6.3. Métodos Eletroquímicos

Embora não seja usual a eletroanálise de componentes nos óleos essenciais, esta adquire uma considerável importância quando existem compostos eletroativos na composição, especialmente se estes são majoritários.

1.6.3.1. Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica, é talvez a mais versátil técnica eletroanalítica para estudos de espécies eletroativas, isso fez com que nos últimos anos ela se tornasse uma ferramenta popular no estudo de reações eletroquímicas. A técnica consiste na aplicação de potencial por onda triangular do potencial do eletrodo, o qual é imerso em uma solução estacionária, medindo-se a corrente resultante. O potencial do eletrodo de trabalho é controlado versus o eletrodo de referência, tal como, eletrodo saturado de calomelano (ESC) ou eletrodo prata/cloreto de prata (Ag/AgCl). O potencial controlado, o qual é aplicado entre esses dois eletrodos pode ser considerado um sinal analítico [53].

1.6.4. Análise Térmica

Esta é outra técnica de pouco uso na análise de óleos essenciais. Porém, são possíveis estudos da perda de massas da amostra pela ação térmica. Além disso, os pontos de congelamento, fusão e ebulição são propriedades físicas que têm todas as condições para serem determinadas por análise térmica, especialmente pela técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

1.6.4.1. Calorimetria Exploratória Diferencial

A determinação de pontos de ebulição de óleos essenciais sempre apresenta dificuldades, devido ao fato de serem considerados misturas complexas, proporcionando uma larga faixa de ebulição pelos métodos usuais. Além disso, a falta de uma instrumentação mais específica para essa medida oferece resultados pouco precisos.

Os métodos mais comuns para esta determinação são executados por meio de um alambique de vidro, o qual é constituído por um balão conectado a um tubo vertical com uma abertura superior (suficientemente comprido para o encaixe do termômetro) sendo aquecido a fogo direto, com uma chama regular de modo a manter-se constante a ebulição ^[54].

O outro processo é o Siwoloboff, que utiliza um aparelho de W. Büchi para a determinação do ponto de fusão e ebulição, o qual é feito por tubos e capilares de vidro ^[54].

Recentemente vem sendo usado a técnica DSC para a determinação de pontos de ebulição de líquidos ^[55,56], apresentando resultados bastante interessantes e que serviram como ponto de partida para a utilização desta técnica na determinação de pontos de ebulição para os diversos tipos de óleos essenciais. Este tipo de medida é definida como aquela na qual o fluxo de calor entre a amostra e um material termicamente inerte é medido em função da temperatura a que ambos estão submetidos ^[57].

Quando um material sofre algum tipo de mudança de estado físico (fusão, transição cristalina, ebulição, etc), ou quando sofre reação química, ocorre liberação ou absorção de calor. Os equipamentos de DSC medem o

fluxo de calor para manter iguais as temperaturas de amostra e da referência durante um fenômeno térmico ^[57].

No DSC cada cadinho (amostra e referência), tem sua temperatura controlada por um aquecedor individual, e o aquecimento é efetuado segundo uma programação de temperatura pré-estabelecida ^[56].

1.7. Métodos de Quantificação

Na análise quantitativa são necessárias precauções em todas as etapas para minimizar ou evitar erros. A alíquota a ser analisada deve ser representativa da amostra. Em cromatografia, a etapa de separação dos componentes da amostra no cromatógrafo pode acarretar erros como: adsorção irreversível de parte da amostra na fase estacionária ou suporte, resposta do detector afetada por alterações de temperatura e vazão de gás, quantidade de amostra injetada fora da faixa linear do detector, etc. ^[47].

A concentração de uma substância na amostra pode ser determinada por um dos métodos apresentados a seguir.

1.7.1. Método do Padrão Externo

No método do padrão externo é primeiramente construída uma curva de calibração (curva analítica) do padrão puro, onde se verifica a linearidade de resposta para o componente de interesse na faixa de concentração esperada ^[44-45]. Assim, a percentagem em massa de uma amostra de concentração desconhecida é determinada a partir da equação da reta

gerada na curva analítica. Alguns parâmetros estatísticos são calculados a partir dessa curva, tais como o desvio padrão e o limite de detecção do método. O método é muito funcional quando a concentração do analito é relativamente alta, porém para concentrações relativamente muito baixas é limitado.

1.7.2. Método de Adição Padrão

Neste método, um analito de interesse dentro de uma mistura pode ser analisado pela adição de quantidades conhecidas crescente de seu padrão. Uma curva analítica é obtida e a partir da equação da reta é determinada a concentração do analito. A adição de padrão é muito usado em muitas técnica analíticas, principalmente quando a concentração do analito é muito baixa e existem efeitos de diluição em matrizes ^[45].

1.7.3. Método do Padrão Interno

O padrão interno (P.I.) é uma substância de concentração conhecida adicionada à amostra, contendo o componente cuja concentração deve ser determinada, de forma que não interfira na análise. O P.I. não deve ser encontrado na amostra, deve ter elevado grau de pureza, ser adicionado em concentrações similares ao composto analisado e ter boa resolução em relação às outras substâncias. Uma curva analítica deve ser construída tal como no método do padrão externo, de forma que pela relação entre as áreas e massas da amostra e do P.I. a concentração do analito seja

determinada. O P.I. é usado, especialmente, na ausência do padrão do analito [45,48].

1.7.4. Método de Normalização

Neste método, a área de cada pico é obtida de uma série de injeções de réplicas de uma mistura contendo quantidades iguais ou conhecidas de todos os componentes. Um componente deve ser escolhido como referência e as respostas relativas dos outros componentes são determinadas pela razão entre as suas áreas e a do componente referência. Este método é muito usado, especialmente, quando não há padrão do analito [45].

1.8. Objetivos

Neste trabalho o óleo essencial contido em folhas e galhos finos da espécie *Aniba duckei* Kostermans (Pau Rosa) é objeto de estudos analíticos, a fim de caracterizá-lo física e quimicamente, visando o aproveitamento desse importante produto vegetal sob uma forma inteiramente sustentável. A modificação química do linalol é proposta, visando sua aplicação industrial e como sendo uma forma de inserir valor agregado no óleo essencial. Para esses estudos foram estabelecidos os seguintes objetivos:

1- Extrair quantitativamente o óleo essencial de folhas secas e galhos finos da *Aniba duckei* Kostermans, cultivada na Reserva Florestal Ducke;

- 2- Extrair quantitativamente o óleo essencial modificando a constante dielétrica do meio;
- 3- Extrair quantitativamente o óleo essencial sob força iônica controlada;
- 4- Caracterizar fisicamente o óleo essencial;
- 5- Analisar por DSC as temperaturas de ebulição dos óleos essenciais;
- 6- Identificar analiticamente o componente majoritário, usando a cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas, espectroscopia no ultravioleta e infravermelho e ressonância magnética nuclear de carbono 13;
- 7- Quantificar o linalol no óleo essencial por cromatografia gasosa, pelo método do padrão externo;
- 8- Verificar a eletroatividade do linalol pela técnica de voltametria cíclica;
- 9- Promover a modificação química do linalol para o respectivo acetato, pela acetilação do óleo essencial com anidrido acético;
- 10- Caracterizar fisicamente o óleo acetilado;
- 11- Identificar analiticamente por espectroscopia no infravermelho e espectroscopia de massas acoplada à cromatografia gasosa o acetato de linalila formado;
- 12- Quantificar por cromatografia gasosa, pelo método do padrão externo, o acetato de linalila;
- 13- Verificar aspectos cinéticos da reação de acetilação;
- 14- Verificar a influência da temperatura na reação de acetilação.

---

2. EXPERIMENTAL

2. EXPERIMENTAL

2.1. Equipamentos, Materiais e Acessórios

2.1.1. Moinho Elétrico

Utilizou-se um moinho elétrico Tecnal, modelo TE - 340 para a trituração das amostra.

2.1.2. Refratômetro

Utilizou-se um refratômetro de ABBE, modelo 2 WAJ, para as medidas de índice de refração.

2.1.3. Balança Analítica

Utilizou-se uma balança analítica da METTLER, modelo AE - 240, com precisão de 10^{-4} unidades.

2.1.4. Extrator de Clevenger

Utilizou-se um extrator de Clevenger de vidro ^[58], acoplado a um balão de vidro de fundo redondo de 1000 mL, para a extração do óleo essencial (FIGURA 4). Uma manta foi usada como fonte de calor.

FIGURA 4. Sistema Clevenger modificado para extração de óleo essencial.

2.1.5. Sistema de Esterificação

Utilizou-se um sistema de esterificação (FIGURA 5) para promover a modificação química do linalol pela acetilação do linalol com anidrido acético. Um condensador, acoplado a um balão de fundo redondo de 125 mL, foi usado para fazer refluxo. Um termômetro, conectado em uma das saídas do

balão foi usado para controlar a temperatura e a manta como fonte de calor [59].

FIGURA 5. Sistema de esterificação para reação de acetilação.

2.1.6. Calorimetria Exploratória Diferencial

Utilizou-se um módulo calorimétrico diferencial DSC - 910, acoplado ao termoanalisador 2.000 Du Pont. Um suporte para amostra com saída capilar foi utilizado (FIGURA 6) para conter a amostra. Este suporte mede 6 mm de altura, com 2 mm de comprimento da saída capilar e 6 mm de diâmetro na base. Foi usada uma Plotter para graficar as curvas DSC.

FIGURA 6. Suporte com saída capilar para amostra DSC.

2.1.7. Análises Espectroscópicas

2.1.7.1. Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta

Analisou-se o óleo essencial por UV no espectrofotômetro da HP 8451A. As amostras foram diluídas em mistura de 60 % de etanol/água.

2.1.7.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Analisou-se o óleo essencial por IV no espectrofotômetro Nicolet - 5SXC FTIR, equipado com detector TGS na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando janelas de KBr.

2.1.7.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C

Utilizou-se um espectrômetro de RMN Brüker avance DRX 400, do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da UFSCar, com frequência de 400 MHz, com 1000 varreduras e usando-se como solvente clorofórmio deuterado.

2.1.7.4. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas

Analizou-se o óleo essencial e o óleo modificado por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas em um cromatógrafo à gás Hewlett Packard 5890, equipado com uma coluna HP - 1 de metil silicone entrecruzada (25 m x 0,22 mm ID; 0,3 μm de espessura de filme), acoplado a um detector seletivo de massas HP 5970 de impacto eletrônico, com uma energia de 70 eV, temperatura de transferência de 300 °C e banco de dados NBS_Reve (40.000 registros).

2.1.8. Cromatografia Gasosa

Analizou-se o linalol no óleo essencial e seu respectivo acetato, qualitativa e quantitativamente, por CG no cromatógrafo à gás Hewlett Packard 5890 Series II equipado com um injetor "split-splitless" e detector de ionização de chamas (FID). Foram usadas duas colunas capilares: 1. coluna LM100 HMW de polietilenoglicol entrecruzada (10m X 0,18mm ID X 0,20 μm

de espessura de filme); 2. coluna POLYH4-MD de polímero de poliuretana de óleo de mamona (7m X 0,25mm ID X 0,21µm de espessura de filme).

2.1.9. Voltametria Cíclica

Utilizou-se um sistema eletroquímico composto por um analisador polarográfico/voltamétrico, modelo 264A - EG&G/PAR, equipado com um sistema de eletrodos SMDE, modelo 303A - EG&G/PAR e um agitador magnético.

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula de vidro com três compartimentos. Os compartimentos do eletrodo auxiliar e de referência eram separados do eletrodo de trabalho por meio de duas placas de vidro sinterizado. A célula eletroquímica também possuía uma torneira de teflon que permitia a passagem de gases para o interior ou sobre a solução, por meio da entrada lateral.

Usou-se como eletrodo de trabalho um eletrodo de disco de carbono vítreo, montado por meio do ajuste de uma amostra cilíndrica de carbono vítreo a um suporte de vidro com resina de poliuretana. Um eletrodo Ag/AgCl e um eletrodo de platina foram utilizados como eletrodo de referência e auxiliar, respectivamente.

2.2. Procedimento Experimental

2.2.1. Origem e Coleta do Material Vegetal

Amostras autênticas da *Aniba duckei* Kostermans foram obtidas de três árvores cultivadas na Reserva Florestal Ducke, Rodovia AM-010, Km 26 - Manaus/AM - Brasil. Um exemplar autêntico está depositado no Herbário da Universidade do Amazonas (H UA) sob o número 5982.

Foram coletadas folhas e galhos finos, com auxílio de um podão, da base da copa de três árvores na estação das chuvas, em janeiro de 1998, e na estação da seca, em outubro de 1998. Depois, foram secas por sete dias sob ventilação natural e trituradas. Utilizou-se um moinho elétrico Tecnal, modelo TE-340. As amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno para posterior extração dos óleos essenciais.

2.2.2. Preparo das Exsicatas

Para o preparo das exsicatas, foram coletados três ramos de folhas, com frutos, da *Aniba duckei* Kostermans de aproximadamente 30 a 40 cm de comprimento. Em seguida foram colocados em jornais e acondicionados para transporte entre folhas de papelão presas por barbantes ^[13-14]. Estas foram prensadas e secas a uma temperatura de 37 a 40 °C por 24 a 36 horas, depois foram montadas em cartolinas, numeradas e depositadas no herbário da Universidade do Amazonas.

2.2.3. Extração do Óleo Essencial

Os óleos essenciais foram extraídos de 50 g de folhas secas ou galhos finos com 500 mL de água destilada, por hidrodestilação, em um sistema de Clevenger ^[58] (FIGURA 2) por 3,5 horas, mantendo-se a temperatura em 100 °C. Posteriormente os óleos foram secos, por meio da percolação em Na₂SO₄ anidro. Estas operações foram realizadas em triplicata. Os óleos foram armazenados em frascos de vidro sob refrigeração, para evitar perdas de constituintes voláteis e, então, submetidos à análises.

O rendimento foi calculado na relação massa/massa pela medida da densidade, observando o volume obtido no próprio sistema de extração. Para a medida da massa utilizou-se uma balança analítica da METTLER, modelo AE - 240, com precisão de 10⁻⁴ g.

2.2.3.1. Determinação do Tempo de Extração

O melhor tempo de extração foi determinado em função do rendimento de óleo e da concentração de linalol. Seis extrações foram feitas nos tempos 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 h ^[60]. Exceto o tempo, todos os outros parâmetros foram mantidos como descrito anteriormente.

2.2.3.2. Extração do Óleo Essencial com Força Iônica Controlada

Foram feitas 5 extrações com força iônica controlada, usando NaCl nas seguintes concentrações: 0,0; 0,1; 0,3; 0,5 e 0,7 mol L⁻¹. Os outros parâmetros inicialmente expostos no item 2.2.3. foram mantidos.

2.2.3.3. Extração do Óleo Essencial em Diferentes Constantes Dielétricas

Executou-se 4 extrações variando-se a constante dielétrica do meio, usando o etanol como agente modificador. Foram preparadas soluções etanólicas de 0,00, 0,86, 1,71 e 2,57 mol L⁻¹.10⁻¹, proporcionando assim quatro diferentes meios com, provavelmente, diferentes constantes dielétricas. Os outros parâmetros inicialmente expostos no item 2.2.3. foram mantidos.

2.2.4. Padrões

Foram selecionados para o presente estudo padrão de linalol encontrado no óleo essencial da *Aniba duckei* K. e de seu respectivo acetato. Tais padrões, que foram utilizados para o desenvolvimento da metodologia analítica, foram gentilmente fornecidos pelo Dr. Antonio Carlos Siani da FIOCRUZ e pelo Dr. Idevar Passos da indústria Dierberger de Óleos Essenciais S.A.

As soluções padrão de monoterpenos foram preparadas por diluição a diferentes concentrações. Estas soluções foram preparadas em etanol absoluto e em clorofórmio.

2.2.5. Determinações Físicas

2.2.5.1. Densidade

A densidade foi determinada medindo-se o volume no próprio sistema de extração e a massa do óleo em um balão volumétrico de 1 mL da Pyrex, previamente seco e tarado, à 25° C. O uso do balão de 1 mL é justificado pelo fato de se obter um volume muito baixo de óleo em cada extração.

2.2.5.2. Solubilidade em Álcool 70 %

Foi determinada a solubilidade em uma solução alcoólica 70% (v/v). Manteve-se constante o volume de óleo e adicionou-se volumes da solução alcoólica até solubilização total.

2.2.5.3. Índice de Refração

O índice de refração foi determinado usando tubos capilares de vidro. Amostras de óleo foram adicionadas com auxílio de tubos capilares, diretamente no prisma fixo de Flint do refratrometro à 25° C.

2.2.5.4. Ponto de Ebulição

A temperatura de ebulição foi determinada por análise térmica, pela técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A vazão de gás (N₂) foi

fixada à 50 mL min⁻¹ sob uma razão de aquecimento da amostra de 10 °C min⁻¹, iniciando em 20° até 250° C. A massa de amostra utilizada foi de 16 à 18 mg, colocada sobre um suporte com saída capilar (FIGURA 6).

2.2.6. Análises Espectroscópicas

2.2.6.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta

Analizou-se o óleo essencial por UV usando soluções de etanol 60 % como solvente. A quantificação do linalol por UV foi feita pelo método adição de padrão. Foram preparadas 5 soluções, mantendo-se constante a massa de óleo essencial e acrescentando sucessivamente concentrações crescentes do padrão linalol. Trabalhou-se na faixa de 200 à 300 nm de comprimento de onda.

2.2.6.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho

As amostras de óleo foram colocadas com auxílio de tubos capilares em discos de KBr suportados em uma janela. Fixou-se 32 varreduras e resolução de 16 cm⁻¹.

2.2.6.3. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas

Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas, injetando 1 µL da amostra diluída em

clorofórmio. A temperatura do injetor foi de 250 °C, operando com temperatura programada iniciando em 40 °C a uma razão de aquecimento de 6 °C min⁻¹ até 280 °C, com temperatura de transferência (na interface) de 300 °C. Foi utilizado hélio como gás de arraste.

2.2.6.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C

Na análise de RMN ¹³C fixou-se 1000 varreduras e usou-se clorofórmio deuterado como solvente. Usou-se em média 50 mg de amostra para cada análise.

2.2.7. Análise Eletroquímica por Voltametria Cíclica

Os experimentos voltamétricos realizados sem pré-concentração, referem-se a voltametria cíclica com eletrodo de carbono vítreo. As condições das análises foram fixadas em: tempo de deaeração de 10 min; tempo de equilíbrio de 15 s; potencial inicial de +1,20 V; potencial final de -0,20 V e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹, em mistura de 60 % etanol/tampão (Britton-Robinson -BR) e pH = 3,3. Além do etanol 60%, foram testados os reagentes: metanol, etanol absoluto, clorofórmio, acetona, acetonitrila e ácido metanosulfônico. Foram preparadas soluções do padrão de linalol e do óleo essencial em todos os referidos reagentes para verificar sua eletroatividade. Os experimentos foram feitos em sala termostaticada a 25 ± 1 °C.

2.2.8. Quantificação de Linalol e Acetato de Linalila por CG

Foram realizadas análises por cromatografia gasosa para quantificação do linalol e do acetato de linalila pelo método do padrão externo, injetando 1 μL da amostra diluída em etanol absoluto em modo de divisão, cuja razão de divisão (S_R) foi 1:43. Usou-se H_2 como gás de arraste com vazão de 0,8 mL min^{-1} , ar sintético como gás de queima com vazão de 450 mL min^{-1} e fixou-se uma velocidade linear média (μ) de 38 cm seg^{-1} . A temperatura do injetor foi fixada em 250 $^{\circ}\text{C}$ e do detector por ionização de chamas em 300 $^{\circ}\text{C}$. Para a quantificação do linalol fixou-se uma programação de temperatura iniciando em 80 $^{\circ}$ a 7 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 150 $^{\circ}\text{C}$ e depois à 12 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) e para o acetato de linalila fixou-se uma programação começando em 80 $^{\circ}$ a 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 118 $^{\circ}\text{C}$ e depois à 12 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$ (1 min).

O linalol e seu respectivo acetato foram quantificados pelo método do padrão externo, considerando a alta concentração de ambos nas amostras. As amostras foram diluídas em etanol absoluto. As curvas analíticas foram construídas com padrões na faixa de 10^{-4} à 10^{-3} mol L^{-1} . Os cálculos das concentrações foram feitos pelas respectivas equações das retas obtidas nas curvas analíticas.

2.2.9. Quantificação de Linalol no Hidrolato por CG

Foram realizadas análises por cromatografia gasosa para quantificação do linalol no hidrolato do óleo essencial pelo método do padrão

externo, injetando 1 μL da amostra pura em modo de divisão, cuja razão de divisão (S_R) foi 1:43. Usou-se H_2 como gás carregador com vazão de 0,8 mL min^{-1} , ar sintético como gás de queima e fixou-se uma velocidade linear média ($\bar{u}$) de 38 cm seg^{-1} . Temperatura do injetor foi mantida a 250° C e do detector por ionização de chamas a 300° C. Para a quantificação do linalol fixou-se uma programação de temperatura iniciando em 70 °C a 5 °C min^{-1} até 95 °C e depois à 17 °C min^{-1} até 250° C (1 min).

O linalol foi quantificado pelo método do padrão externo, considerando sua maior concentração na amostra. A curva analítica foi construída com padrão de linalol na faixa de 10^{-3} a 10^{-2} mol L^{-1} . Os cálculos das concentrações foram feitos pelas equações das retas obtidas.

2.2.10. Acetilação do Óleo Essencial

2.2.10.1. Reação de Acetilação

A reação de acetilação do óleo essencial para formação do éster acetato de linalila foi realizada pela rota do anidrido acético/acetato de sódio^[61]. Usou-se o óleo adquirido na Destilaria de Presidente Figueiredo/AM. Considerando a concentração de linalol encontrada neste óleo (TABELA 7), a reação foi realizada com excesso de anidrido acético na razão molar de linalol, anidrido acético e acetato de sódio 1:9:1, sob temperatura de 120 °C e pressão atmosférica.

2.2.10.2. Cinética da Reação de Acetilação

Para o estudo cinético da reação na formação acetato de linalila, por CG, fixou-se a razão molar de linalol, anidrido acético, acetato de sódio em 1:9:1 e temperatura de reação em 120 °C. Foram coletadas alíquotas a cada 30 minutos de reação, sendo analisada a área referente ao pico cromatográfico do linalol e do acetato de linalila formado.

2.2.10.3. Variação da Temperatura de Reação

A influência da temperatura na reação foi estudada fixando a relação molar 1:9:1 e variando a temperatura de 110° à 150 °C com intervalos de 10 °C, sob pressão atmosférica.

---

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Identificação da *Aniba duckei* Kostermans pela sua Exsicata

As amostras vegetais, devidamente preparadas são conhecidas como exsicatas, que são partes vegetais retiradas, prensadas e secas, contendo estruturas vegetativas e reprodutivas (podendo ter flores e/ou frutos), acompanhados de uma etiqueta ou rótulo contendo, por sua vez, informações sobre algumas características da planta e do local de coleta; servindo como principal instrumento para sua identificação ^[13-14], conforme a FIGURA 7. A exsicata da espécie possui ficha catalográfica com alguns dados importantes da planta, tais como, o nome científico, o nome vulgar, a família, o local de coleta, o identificador e o herbário onde está depositada. A exsicata da *Aniba duckei* Kostermans está depositada no Herbário da Universidade do Amazonas sob o nº 5982.

FIGURA 7. Exsicata da espécie *Aniba duckei* Kostermans.

3.2. Propriedades Físicas do Óleo Essencial

Os óleos essenciais podem sofrer alteração pela ação das condições naturais, dependendo da natureza química dos seus constituintes. O ar, a luz, o calor, a água e impurezas diversas de origem natural ou oriundas de falsificações estão entre os principais fatores que os modificam. As alterações podem ser reconhecidas tanto por mudanças de suas características organolépticas (aroma, cor, sabor, transparência, fluidez), como também dos valores de suas propriedades químicas e físicas. Assim, diminuindo as suas qualidades, reduz-se de igual modo sua utilização nas indústrias de perfumaria, cosmética, alimentos, químicas, etc. Prejuízos análogos sofrem a indústria farmacêutica, quando se utilizam como corretivo do cheiro e sabor e a terapêutica, quer pela diminuição dos constituintes ativos, quer por se tornarem agressivos quando usados externamente, causando irritações na pele ^[54].

Os valores das determinações físicas estão contidos na TABELA 1. Observando esses valores, nota-se uma concordância com os valores registrados para espécies nativas por Azeredo, 1958, onde o óleo foi extraído da madeira, tendo densidade de 0,87 a 0,89 g mL⁻¹, índice de refração de 1,46 a 1,47, temperatura de ebulição de 195° C e solubilidade em 2 volumes de solução alcoólica 70 %.

Os valores das propriedades dos óleos extraídos de folhas e galhos finos da espécie cultivada são precisamente concordantes com aqueles do óleo da destilaria, o qual é extraído do lenho de espécies nativas.

TABELA 1. Propriedades físicas dos óleos essenciais extraídos de folhas e galhos finos das coletas em estação chuvosa (janeiro/1998) e estação seca (outubro/1998) e da destilaria.

Propriedades	Óleo de folhas		Óleo de galhos		Óleo da destilaria
	Coleta Janeiro/98	Coleta Outubro/98	Coleta Janeiro/98	Coleta Outubro/98	Coleta Janeiro/98
Cor	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo
Aparência	Límpido	Límpido	Límpido	Límpido	Límpido
Densidade (g mL ⁻¹)	0,88	0,89	0,88	0,89	0,87
Solubilidade em álcool 70 % (V/V)	1:2	1:2	1:2	1;2	1;2
Índice de refração	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47

3.3. Análise Térmica do Óleo Essencial

3.3.1. Calorimetria Exploratória Diferencial

Os óleos essenciais são uma mistura complexa e contêm sempre um grande numero de constituintes e, por tal motivo, é muito difícil discutir em seus pontos de ebulição pelos métodos atualmente empregados. Neste caso, embora seja a técnica DSC altamente precisa para determinação de pontos de ebulição, determinam-se as temperaturas nas quais começam a ebulir, os intervalos de temperatura em que destilam ou se separam determinadas frações ^[54]. Atualmente a técnica DSC está sendo muito

empregada para a determinação de pontos de ebulição de líquidos ^[62] porém de pouca aplicação em óleos essenciais.

As curvas DSC para as determinações das temperaturas de ebulição dos óleos essenciais extraídos de folhas e galhos finos da *Aniba duckei* K., da destilaria e do padrão de linalol são mostrados na FIGURA 8.

FIGURA 8. Curvas termoanalíticas de DSC: (A) Óleo essencial das folhas, (B) óleo essencial de galhos finos, (C) óleo essencial da destilaria e (D) padrão de linalol.

As curvas DSC obtidas com razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e 18 mg de amostra para o óleo essencial das folhas, galhos finos, da destilaria e do padrão de linalol, apresentaram um único pico endotérmico, cujas temperaturas estão descritas na TABELA 2. A integração das áreas dos picos, resultaram em entalpias correspondentes à temperatura inicial de ebulição do linalol ^[63,64], também descritas na TABELA 2. A alta correlação entre os valores da temperatura podem ser justificados pelo fato de o linalol ser o componente majoritário no óleo.

As curvas DSC também demonstraram que não há evidência de decomposição do linalol e que também é clara a ausência de água de hidratação. Os resultados obtidos podem ser considerados inéditos, pois a literatura não apresenta trabalhos referentes à análise deste composto por DSC. Observa-se que o perfil das curvas A, B e C, nessa ordem, aproxima-se do perfil da curva D. Pelos valores da quantificação do linalol na TABELA 7, item 3.7.2., é possível que, pelo perfil das curvas, quanto maior a concentração de linalol no óleo essencial melhor resolvido fica o pico endotérmico, além de aproximar da temperatura de ebulição do padrão de linalol. Isto abre a possibilidade para a determinação quantitativa do linalol em função da temperatura de ebulição e até mesmo pela entalpia envolvida no sistema, pois novamente aqui a variação é no sentido da variação de linalol no óleo. Pelos valores da última coluna na TABELA 2, calculados pela relação direta com a entalpia do linalol padrão, nota-se o aumento da energia no sistema com o aumento da concentração de linalol nas amostras. Sendo notado o mesmo comportamento em relação ao ponto de ebulição. As diferenças entre os pontos de ebulição e entre as entalpias podem ser,

então, justificadas pela existência de outros componentes e suas respectivas concentrações nos óleos essenciais.

TABELA 2. Valores da temperatura de ebulição e correspondentes entalpias dos óleo essenciais extraídos de folhas secas e galhos finos, da destilaria e do linalol padrão.

Amostra	Coleta	Ponto de ebulição (° C)	Entalpia (J g ⁻¹)	Entalpia (J g ⁻¹)*
Folha seca	Janeiro/1998	195,38	155,20	140,67
Folha seca	Outubro/1998	194,35	105,80	132,70
Galho fino	Janeiro/1998	196,81	158,60	151,96
Galho fino	Outubro/1998	196,91	150,30	-
Destilaria	Janeiro/1998	198,32	200,70	175,70
Linalol		198,44	194,57	

* Valores calculados a partir do valor do padrão de linalol.

Sendo esta uma técnica totalmente nova e eficiente para a determinação de temperaturas de ebulição de óleos essenciais, novos estudos podem ser feitos no sentido de viabilizá-la para a investigação científica de óleo essenciais.

3.4. Análises Espectroscópicas do Óleo Essencial

A análise espectroscópica dos óleos essenciais de folhas, galhos finos da *Aniba duckei* Kostermans, comparando com os dados do padrão de linalol e da literatura, proporcionou resultados inteiramente confiáveis. Muitos

dos dados obtidos e descritos neste trabalho foram previamente apresentados em eventos científicos a nível nacional e internacional [65-67].

3.4.1. Espectroscopia na Região do Ultravioleta

Na região do ultravioleta as absorções ocorrem por meio de transições eletrônicas. Para o linalol, considerando que é um composto insaturado com duas duplas ligações (FIGURA 1), espera-se uma transição do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

A FIGURA 9 apresenta os espectros de absorção no UV, para a mistura de etanol/água a 60 %, o óleo essencial e o padrão de linalol.

O comprimento de onda do máximo de absorção, λ_{max} , foi de 202 nm, em mistura de etanol/água a 60 %, para o padrão de linalol (FIGURA 9A).

Para as amostras de óleo essencial o espectro é mostrado na FIGURA 9B e 9C, com λ_{max} em 202 nm, concordando com os dados apresentados na FIGURA 9A.

A esta banda foi atribuída a presença de compostos alifáticos insaturados [26,68], apresentando transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ e indicando por comparação entre seus espectros B e C a possível presença do linalol no óleo essencial.

FIGURA 9. Espectros de absorção no UV: (A) padrão de linalol. (B) óleo essencial extraído de folhas, (C) óleo essencial extraído de galhos finos e (D) mistura etanol/água a 60 %.

3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho

Os espectros obtidos na região do infravermelho dos óleos essenciais de folhas secas, galhos finos e do padrão de linalol estão mostrados na FIGURA 10. A maior parte das absorções nos espectros A, B e C, comparadas com a literatura ^[69] ocorrem nas mesmas frequências. As fortes bandas de absorção em 3400 cm^{-1} nos espectros A e B são atribuídas ao estiramento OH^- , principalmente devido à presença majoritária do linalol, confirmada pelo espectro C. As bandas em 2980 e 2920 cm^{-1} são atribuídas aos estiramento C-H de alifáticos e em 3100 cm^{-1} à C-H vinílico. A banda fraca em 1625 é atribuída ao estiramento C=C vinílico. As bandas em 920 and

1100 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento C-O do grupo alcoólico. Essas observações são, portanto totalmente justificadas pela forte presença do linalol.

FIGURA 10. Espectro na região do infravermelho de: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos e (C) padrão de linalol.

A TABELA 3 contem as principais bandas de absorção com seus respectivos números de ondas e modos de deformação.

TABELA 3. Principais bandas de absorção e modos vibracionais do padrão de linalol e do óleo essencial na região do infravermelho.

Composto (linalol)	Tipo de ligação	Grupo Funcional	Tipo de deformação	Absorção linalol (cm ⁻¹)	Absorção óleo (cm ⁻¹)
	O—H	Hidroxil	Axial	3406,4	3395,7
	C—H	Vinil	Axial	3086,2	3099,2
	C—H	Metil	Axial	2972,0	2970,7
	C=C	Vinil	Axial	1625,0	1625,0
	C—O	Álcool	Axial	919,9	922,3

3.4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C

Os espectros da ressonância magnética nuclear de ¹³C dos óleos essenciais de folhas secas, galhos finos e do padrão de linalol são apresentados na FIGURA 11, cujos valores de deslocamentos químicos estão contidos na TABELA 4. Tais valores confirmam a estrutura molecular do linalol, comparando com os dados da literatura ^[26].

No espectro C, pode-se observar os 10 sinais relativos aos carbonos do linalol. Os sinais com deslocamentos químicos de 111,6 e 144,9 mg L⁻¹ são relativos aos carbonos do grupo CH₂ e CH, respectivamente, da primeira ligação dupla. O sinal em 73,4 mg L⁻¹ é devido ao carbono ligado ao grupo

OH. Os sinais em 41,9 e 22,7 mg L⁻¹ são relativos aos carbonos dos grupos CH₂ nas posições 4 e 5, respectivamente, da molécula ilustrada na TABELA 4. Os sinais em 124,2 e 131,8 são devidos aos carbonos das posições 6 e 7, respectivamente, na segunda ligação dupla. Finalmente, os sinais em 27,7, 17,6 e 25,6 são referentes aos átomos de carbono das posições 8, 9 e 10, respectivamente, dos grupamentos metila.

Nos espectros A e B dos óleos essenciais extraídos de folhas e galhos finos, assim como no caso do espectro C, predomina os sinais relativos aos átomos de carbono do linalol, apresentando praticamente os mesmos deslocamentos químicos dos átomos de carbono, como apresenta a TABELA 4. Assim, os espectros de RMN ¹³C dos óleos essenciais confirmaram, a predominância de linalol, pois apresentam praticamente os mesmos deslocamentos químicos vistos no espectro C, como mostra a TABELA 4.

FIGURA 11. Espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C para: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos e (C) padrão de linalol.

TABELA 4. Valores de deslocamentos químicos (δ) de ^{13}C do linalol na literatura, no padrão autêntico e no óleo essencial (a partir do TMS) com suas respectivas multiplicidades.

Composto (linalol)	Átomo	δ (ppm) Literatura*	δ (ppm) Linalol	δ (ppm) experimental (óleo)	Multiplicidade
	1	111,3	111,6	111,6	Triplete (t)
	2	145,7	144,9	144,9	Dublete (d)
	3	72,7	73,4	73,3	Singleto (s)
	4	41,2	41,9	41,9	Triplete (t)
	5	22,6	22,7	22,7	Triplete (t)
	6	124,6	124,2	124,3	Dublete (d)
	7	130,3	131,8	131,7	Singleto (s)
	8	27,2	27,7	27,7	Quarteto (q)
	9	17,5	17,6	17,6	Quarteto (q)
	10	25,3	25,6	25,6	Quarteto (q)

* Referência [26].

3.4.4. Cromatografia acoplada à Gasosa Espectroscopia de Massas

Os cromatogramas dos óleos essenciais de folhas secas, galhos finos e do padrão de linalol de onde foram obtidos os espectros de massa são apresentados na FIGURA 12. Na FIGURA 13 são apresentados os espectros referentes ao pico 1 dos cromatogramas.

A identificação do linalol por espectrometria de massas foi confirmada pelo padrão de linalol e por dados da literatura ^[70], como pode ser observado nos espectros da FIGURA 13. Os espectros de massas C e B apresentaram

o pico do íon molecular $m/z = 154$ [M^+], confirmando como $C_{10}H_{18}O$ a fórmula molecular do componente do pico 1 (FIGURA 11). Os picos $m/z = 136$ [$M - 18$] e $m/z = 139$ [$M - 18 - 15$] são característicos da perda de água e do grupo metila, respectivamente.

Comparando os resultados obtidos pelas fragmentações, intensidades e vizinhanças dos fragmentos no espectro de massas do padrão de linalol, com os espectros de massas do óleo de folhas e galhos finos, foi possível confirmar com segurança o linalol como sendo o componente majoritário do óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans.

FIGURA 12. Cromatogramas de: (A) óleo essencial extraído de folhas secas; (B) óleo essencial extraído de galhos finos; (C) padrão de linalol. Tempo de retenção do pico 1: 4,3 min. Condições: Coluna LM 100 HMW de polietilenoglicol entrecruzada (10m X 0,18mm ID X 0,20 μ m de espessura de filme); razão de espalhamento (S_R) 1:43. Temperatura programada de 80 $^{\circ}$ C a 7 $^{\circ}$ C min $^{-1}$ até 150 $^{\circ}$ C depois a 12 $^{\circ}$ C min $^{-1}$ até 250 $^{\circ}$ C.

FIGURA 13. Espectros de massas de (A) composto do pico 1 do cromatograma A, FIGURA 11; (B) Composto do pico 1 do cromatograma B, FIGURA 11 e (C) padrão de linalol.

3.5. Análise do Óleo Essencial e seu Hidrolato por CG

3.5.1. Cromatografia do Óleo Essencial

Os cromatogramas correspondentes dos óleo essenciais de folhas e galhos finos e do padrão de linalol, FIGURA 12, obtidos usando-se a coluna LM 100, apresentaram uma boa resolução entre os componentes do óleo, principalmente do pico majoritário de linalol. Assim, os cromatogramas expressaram a boa eficiência do método cromatográfico aplicado. Além do linalol, outros monoterpenos oxigenados fazem parte da composição do óleo como constituintes minoritário, tais como α -terpineol e 1,8 cineol [27,71]. Comparando os cromatogramas de óleos de folhas e galhos finos observa-se que não há diferenças qualitativas na composição química.

O uso da coluna LM 100 nas condições fixadas no item 2.2.8., apresentou a vantagem de poder ser aplicada tanto nas análises qualitativas quanto nas análises quantitativas dos óleos essenciais, proporcionando um menor tempo de análise e uma resolução satisfatória dos picos cromatográficos.

O pico cromatográfico 1 (FIGURA 12) em todos os cromatogramas com tempo de retenção de 4,3 min. corresponde ao linalol, o componente majoritário do óleo essencial extraído de folhas e galhos e identificado por meio dos seus espectros de massas (FIGURA 13) e o pico (S) corresponde ao solvente etanol utilizado na diluição.

A comparação entre os cromatogramas obtidos do óleo essencial das folhas e dos galhos, indicou uma similaridade entre os mesmos, confirmando a presença do linalol como o componente majoritário em ambos os óleos.

3.5.2. Cromatografia do Hidrolato

O hidrolato, por ser uma matriz aquosa, apresenta dificuldades para a análise por cromatografia gasosa, pois as colunas comumente existentes no mercado, são facilmente deterioradas pela ação da água. Porém, com o uso da coluna capilar POLYH4-MD ^[72,73] desenvolvida no Laboratório de Química Analítica e Cromatografia da UNESP de Bauru, foi possível fazer a análise qualitativa e quantitativa do linalol que é dissolvido no hidrolato. Esta coluna possui como fase estacionária polímero de poliuretana derivada do óleo de mamona e está em fase experimental. Porém, tem produzido resultados satisfatórios na separação de componentes em óleos essenciais ^[74].

A FIGURA 14 contem o cromatograma correspondente ao hidrolato do óleo essencial extraído de folhas juntamente com o cromatograma do padrão de linalol saturado em água e da água destilada. O pico S é atribuído ao solvente água, cujo tempo de retenção é de 0,4 min, e o pico 1 é o pico atribuído ao linalol correspondente ao tempo de 2,4 min, o mesmo tempo do padrão na água. O sinal da água pode ser justificado por alguma alteração termodinâmica na chama do FID. De forma geral, o cromatograma do hidrolato apresentou uma boa resolução entre os picos, evidenciando a eficiência do método cromatográfico, sob as condições do item 2.2.9.

FIGURA 14. Cromatogramas de: (A) hidrolato puro; (B) padrão de linalol saturado em água; (C) água destilada. Tempo de retenção do pico 1: 2,4 min. Condições: Coluna POLYH4-MD de poliuretana de mamona (7m X 0,25mm ID X 0,21µm de espessura de filme); razão de espalhamento (S_R) 1:43. Temperatura programada de 70 °C a 5 °C min⁻¹ até 95 °C depois a 17 °C min⁻¹ até 250 °C (1min).

O uso da coluna POLYH4-MD para análise do hidrolato do óleo essencial da *aniba duckei* K. abre um amplo caminho para futuras investigações científicas de produtos residuais da extração de óleos essenciais, principalmente dos hidrossolúveis.

3.6. Análise do Óleo Essencial por Voltametria Cíclica

A investigação eletroquímica do óleo essencial da *Aniba duckei* K., sob as condições fixadas no item 2.2.7., mostrou que o linalol é um composto que não apresenta atividade eletroquímica e menos ainda os outros componentes do óleo. A FIGURA 15 mostra voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em mistura de etanol\tampão - BR a 60 %, pH 3,3 do padrão de lionalol. Como pode ser observado, o voltamograma cíclico não expressa picos de oxidação ou redução. Isto significa que a molécula de linalol não possui grupos eletroativos sob estas condições para promover o processo de oxiredução e, em consequência, seu voltamograma não apresenta ondas voltamétricas. Além do padrão o óleo essencial foi analisado e apresentou o mesmo comportamento, não apresentando nenhum grupo eletroativo nas mesmas condições.

FIGURA 15. Voltamograma cíclico do óleo essencial extraído da destilaria, registrado em eletrólito suporte (etanol/tampão à 60 %), pH 3,3; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

3.7. Extração do Óleo Essencial e Quantificação do Linalol

3.7.1. Determinação do Tempo de Extração

O tempo de extração do óleo essencial é um dos principais parâmetros físico-químicos a ser considerado da indústria de óleos essenciais, pois além de estar diretamente relacionado com a qualidade do óleo, reflete na natureza econômica do processo ^[9]. Uma destilação rápida, pode conduzir a material contendo predominantemente constituintes mais voláteis, porém destituídos das principais características. Entretanto, uma extração prolongada pode encarecer o processo e também sobrecarregar o produto de compostos de aroma menos estimados.

A FIGURA 16 apresenta o estudo do tempo de extração ideal para o óleo essencial por hidrodestilação em folhas, de uma massa fixada em 50 g, em função do rendimento percentual do óleo. Como pode ser observado na curva (FIGURA 16) e na TABELA 5, o rendimento máximo do óleo extraído nas condições do item 2.2.3.1. foi obtido no tempo de extração de 4,0 horas, obtendo-se um volume de óleo essencial igual a 0,63 mL. A este valor foi atribuído o percentual máximo de rendimento. A partir desse tempo a quantidade de óleo extraível permaneceu constante.

Pelos resultados obtidos neste estudo, é proposto que o tempo ideal seria de 3,5 h, obtendo-se um rendimento de 98,5 % de óleo essencial, apesar de que em 4,0 h obteve-se o rendimento máximo. O aumento no tempo em 0,5 h crescenta um gasto a mais de energia que, talvez, não compense economicamente o aumento de 1,5 % no rendimento. Além disso, esse aumento não é expressivo na quantidade de óleo extraído.

FIGURA 16. Variação do rendimento de óleo essencial em função do tempo de extração, considerando como 100 % o conteúdo máximo de óleo extraído nas condições do item 2.2.3.1.

TABELA 5. Valores do tempo de extração, rendimento de óleo essencial (considerando 100 % o conteúdo máximo de óleo extraído nas condições do item 2.2.3.1.) e conteúdo de linalol no óleo e no hidrolato. Manteve-se constante a massa de 50 g de folhas secas para as extrações.

Tempo (h)	Volume de óleo (mL)	Rendimento de óleo (%)	Concentração de linalol no óleo	
			(mol L ⁻¹)*	(%) m/m
0,5	0,43	67,9	4,78	83,7
1,0	0,50	80,4	3,90	68,3
2,0	0,58	92,0	3,77	66,0
3,0	0,60	96,4	3,51	61,5
4,0	0,63	100,0	3,46	60,7
5,0	0,63	100,00		60,5

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 17.

As concentrações de linalol no óleo essencial em função do tempo de extração foram determinadas pela equação da reta gerada na curva analítica da FIGURA 17, construída pelo método do padrão externo. As concentrações no hidrolato foram determinadas pela curva da FIGURA 18, pelo mesmo método.

FIGURA 17. Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,76; 1,52; 2,27 e 3,03 mol L⁻¹ . 10⁻¹, para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial em função do tempo de extração.

FIGURA 18. Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 5,64 . 10⁻⁴; 1,13 . 10⁻³; 1,69 . 10⁻³; 2,26 . 10⁻³; 2,82 . 10⁻³; 5,64 . 10⁻³; 1,13 . 10⁻² e 1,69 . 10⁻² mol L⁻¹, para a determinação das concentrações do linalol no hidrolato em função do tempo de extração e da força iônica.

FIGURA 19. Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função do tempo de extração.

O comportamento da concentração de linalol contido no óleo essencial em relação ao tempo de extração é apresentado no gráfico da FIGURA 19. Observou-se um decréscimo na concentração de linalol com o aumento do tempo de extração, até estabilização no tempo 4,0 h. Isto pode ser explicado por dois caminhos. Primeiro, no início da extração (considerando o tempo 0,5 h) o linalol, por ser considerado um dos componentes mais voláteis, é destilado em concentrações muito elevadas. Depois, outros componentes menos voláteis são adicionados ao volume de óleo, promovendo, praticamente, uma diluição do linalol. Em segundo lugar, pelo fato de o óleo estar continuamente em contato com a água, no decorrer do tempo parte do conteúdo de linalol no óleo solubiliza-se na água até

atingir um ponto de saturação, formando o hidrolato, o que deve ocorrer no tempo de aproximadamente 4,0 h.

A variação da concentração de linalol no hidrolato em função do tempo de extração, FIGURA 20 e TABELA 6, é inversa àquela observada anteriormente no óleo essencial. Na medida em que aumentou-se o tempo de extração houve um acréscimo na concentração até atingir a saturação ora discutida. No ponto de saturação do linalol na água é possível determinar sua solubilidade. Para tanto é necessário um estudo do produto de solubilidade (K_{ps}).

FIGURA 20. Variação da concentração de linalol no hidrolato em função do tempo de extração.

TABELA 6. Valores do tempo de extração e concentração de linalol no hidrolato. Manteve-se constante a massa de 50 g de folhas secas para as extrações.

Tempo (h)	Concentração de linalol no hidrolato	
	(mol L ⁻¹).10 ⁻³ *	(%) m/m
0,5	4,30	0,06
1,0	4,63	0,07
2,0	5,74	0,09
3,0	6,11	0,09
4,0	5,82	0,09
5,0	-	-

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 18.

3.7.2. Rendimento do Óleo Essencial e seu Conteúdo de Linalol

As concentrações de linalol no óleo essencial extraído de folhas secas, galhos finos e da destilaria foram determinadas pela equação da reta gerada na curva analítica da FIGURA 21, construída pelo método do padrão externo. Apesar de possuir um teor menor de linalol, o óleo essencial de folhas e galhos finos é extraído em volume maior, pelos dados da TABELA 7, tendo maior rendimento e, por conseguinte, fornecendo maior massa de linalol.

FIGURA 21. Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,85; 1,41; 2,82 e 4,23 mol L⁻¹ · 10⁻³, para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial extraído de folhas e galhos finos e da destilaria.

Considerando o tempo de extração de 3,5 h e, observando os dados da TABELA 7, o rendimento do óleo essencial de folhas secas e galhos finos ficou acima de 1,0 %, o que é um valor considerável, tendo em vista que a extração foi feita por hidrodestilação. O rendimento de óleo extraído de folhas é maior que aqueles encontrados nas destilarias (1,0 %), onde o óleo é extraído a partir do lenho. Mesmo não tendo dados autênticos do rendimento em folhas verdes, é esperado que o rendimento nas mesmas seja maior, pois certamente há perdas no processo de secagem, observando estudos anteriores ^[40]. As células oleíferas nas folhas são mais facilmente rompidas que aquelas no lenho. Assim, no processo de secagem há uma perda considerável de óleo essencial.

TABELA 7. Valores de rendimento do óleo essencial e concentração de linalol extraído de uma massa de 50 g de folhas secas, galhos finos e lenho e da Destilaria de Presidente Figueiredo.

Amostra	Coleta	Rendimento de óleo essencial (%) m/m	Concentração de linalol no óleo	
			(mol L ⁻¹)*	(%) m/m
Folha seca	Janeiro/1998	1,5	4,12	72,3
Folha seca	Outubro/1998	1,2	3,89	68,2
Galho fino	Janeiro/1998	1,3	4,46	78,1
Lenho	Janeiro/1998	1,1	-	-
Destilaria	Janeiro/1998	1,0	5,09	90,3

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 21.

Pelos dados de rendimento obtidos da extração, nota-se que é extraído mais óleo essencial nas folhas que no lenho. Porém, a concentração de linalol no óleo obtido na destilaria é maior, podendo ser justificado pelo fato de, neste caso, o óleo ser extraído de espécies nativas adultas. Entretanto, considerando o rendimento de óleo nas folhas (1,5 %), em relação ao da destilaria (1,0 %), observa-se um conteúdo de massa de linalol de aproximadamente 20 % maior na folha, perfazendo uma diferença em massa de linalol bastante significativa. Isso sugere a possibilidade de produção do óleo essencial a partir das folhas mediante um sistema de podas periódicas. Além de possibilitar uma maior produção do óleo essencial e de linalol, a poda pode gerar maior revigoração na planta.

Considerando, por exemplo, que uma árvore precisa de 50 anos para produzir uma massa de lenho de 2000 Kg, com o sistema de podas nesse mesmo tempo existe a possibilidade de se obter uma massa de folhas maior.

É sabido que o sistema de podas aumenta a massa vegetal e o volume de folhas, além de torná-las mais espessas. Isto é extremamente importante, pois, conseqüentemente, haverá uma maior produção de óleo essencial, além contribuir para evitar um problema ecológico muito visível hoje na Amazônia: a extinção da espécies nativas, como o é o Pau Rosa.

3.7.3. Extração com Força Iônica Controlada

O rendimento de óleo essencial ou a concentração de linalol podem ser aumentado com a diminuição da solubilidade do óleo na água, considerando o efeito “*salting out*”^[42,75]. No processo de extração com força iônica controlada foi usado o NaCl para controlar a força iônica.^[76]

As curvas das FIGURAS 22 e 23, relacionam as concentrações de linalol no óleo e no hidrolato, respectivamente, em função do aumento da força iônica, embora não sejam representativas para a determinação do coeficiente de atividade (γ), apontam para possíveis estudos com essa finalidade. Principalmente é possível realizá-los por meio da curva da FIGURA 23, onde o efeito “*salting out*” é mais evidente, cujas concentrações podem ser relacionados com a equação de Setschevow (item 1.6.) dada pela teoria de Debye-Huckel^[75]. Por essa equação, para o linalol puro o coeficiente salting k pode ser estimado pela relação proporcional com o coeficiente de atividade, que, por conseguinte pode ser proporcional ao coeficiente de transferência (γ_t), de forma “grosseira”, haja visto que existem outros efeitos específicos no sistema. A contribuição desses estudos

mostrou a possibilidade de empobrecer o hidrolato de linalol, deixando o óleo mais rico do mesmo componente.

A curva da FIGURA 22 expressa a variação do conteúdo de linalol no óleo essencial na presença de crescentes forças iônicas. Embora a alteração no rendimento tenha sido imperceptível, houve uma significativa mudança na concentração de linalol no óleo pela ação da força iônica. A crescente concentração do sal provocou um aumento na concentração do linalol. Certamente, houve uma diminuição da solubilidade do linalol, discutida anteriormente, pela ação da força iônica, por meio do efeito “*salting out*” favorecendo, dessa forma, o aumento da concentração. A partir da força iônica $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a concentração é estabilizada.

FIGURA 22. Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função da força iônica.

A variação da concentração de linalol no hidrolato é ainda mais expressiva do que no óleo essencial na presença de crescentes forças iônicas, conforme curva da FIGURA 23. O comportamento da concentração é inverso àquele observado no óleo. Houve uma diminuição da concentração com o aumento da força iônica, fazendo com que o linalol não permanecesse no hidrolato da mesma forma que ficaria sem a presença da força iônica. Assim a solubilidade do linalol foi diminuída confirmando, dessa forma, a influência do efeito “*salting-out*” no processo de extração do óleo essencial. Novos estudos são sugeridos neste trabalho no sentido de verificar a atividade do linalol, um não-eletrólito, na faixa de força iônica de 0,0 a 0,2 mol L⁻¹.

FIGURA 23. Variação da concentrações de linalol do hidrolato em função da força iônica.

Pelos valores da TABELA 8, nota-se que o rendimento não sofreu alteração significativa. Certamente isto é devido à solubilidade baixa do óleo na água permitindo, desta forma, que apenas uma pequena parte se solubilize compondo o hidrolato, sendo por isso, praticamente, imperceptível a alteração.

As concentrações de linalol no óleo essencial em função da força iônica foram determinadas pela equação da reta gerada na curva analítica da FIGURA 24, construída pelo método do padrão externo. As concentrações no hidrolato foram determinadas pela curva da FIGURA 18, pelo mesmo método.

FIGURA 24. Curva analítica obtida pelo método do padrão externo, nas concentrações 0,28; 0,56; 0,85 e 1,12 mol L⁻¹ · 10⁻⁴, para a determinação das concentrações do linalol no óleo essencial extraído em função da força iônica.

TABELA 8. Valores da variação de rendimento do óleo essencial e seu conteúdo de linalol extraído na presença de diferentes forças iônicas. A massa de folhas da qual foi extraído o óleo foi fixada em 50 g.

Força iônica (mol L ⁻¹)	Rendimento de óleo (%)	Concentração de linalol no óleo		Concentração de linalol no hidrolato	
		(mol L ⁻¹)*	(%) m/m	(mol L ⁻¹).10 ⁻³ **	(%) m/m
0,0	1,2	4,08	71,5	6,28	0.097
0,1	1,2	4,48	78,6	4,07	0.063
0,3	1,2	4,46	78,1	2,89	0.045
0,5	1,2	4,43	77,7	2,87	0.044
0,7	1,2	4,49	78,7	3,11	0.048

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 24.

** Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 18.

Considerando os dados da TABELA 8, para uma extração feita com força iônica 0,0 mol L⁻¹ em 1000 g de folhas, é obtido 12,0 g (1,2 %) de óleo essencial e 8,6 g (71,5%) de linalol. Quando extraído em força iônica 0,1 mol L⁻¹, da mesma quantidade de folhas é obtido 12,0 g de óleo (1,2 %) e 9,4 g (78,6 %) de linalol, dando uma diferença de 7,1 % a mais de massa de linalol.

Os resultados obtidos no estudo da influência da força iônica na extração sugerem que a ela pode ser empregada na extração de óleo essencial para evitar o processo de coação. Como visto na introdução, nesse processo é feito uma redistilação do hidrolato para aproveitamento da parte solubilizada na água, que é efetuada quando há uma solubilização consideravelmente elevada do óleo essencial. Além de contribuir nesse processo aumentando a produção de linalol, o emprego da força iônica evita que o linalol residual no hidrolato seja despejado na natureza, o que

comumente é feito pelas destilarias, causando danos ambientais irreparáveis, pois já existem estudos da toxidez do linalol ^[77].

3.7.4. Extração com Mudança na Constante Dielétrica do Meio

A água é considerada um solvente de alta constante dielétrica ^[78]. Quando é acrescentada uma pequena concentração de outro solvente de constante dielétrica menor, a exemplo do etanol, é proporcionado uma alteração decrescente na constante dielétrica, pois o momento dipolar da molécula de etanol é menor que a da água caracterizando um novo meio extrator. Assim, quando são acrescentadas quantidades crescentes de etanol na água, para formar a solução hidroalcolica, menores constantes dielétricas caracterizarão o meio extrator.

A curva da FIGURA 25 apresenta a variação do rendimento de óleo essencial, enquanto que a curva da FIGURA 26 a da concentração de linalol em função da mudança da constante dielétrica. Observando a curva da FIGURA 25, nota-se um aumento no rendimento do óleo essencial até a concentração etanólica de $8,57 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, que corresponde a 0,5 % de álcool na solução hidroalcolica (TABELA 9). Depois, houve um decréscimo até a última extração com 1,5 % de álcool. Esse decréscimo pode ser atribuído ao aumento da solubilidade do óleo na solução hidroalcolica por efeito da constante dielétrica, que provoca a maior solvatação de suas moléculas do que na água pura, sendo assim mais facilmente transferido para o hidrolato ^[79]. Na curva da FIGURA 26 pode ser observado um

decréscimo na concentração de linalol, justificado pelo mesmo efeito exposto anteriormente.

Considerando a tendência de ambas as curvas nas FIGURAS 25 e 26, no ponto onde a concentração etanólica é $8,05 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (0,47% v/v) os valores correspondentes de rendimento de óleo e conteúdo de linalol são 1,3 e 65,6 %, respectivamente. Isto significa que enquanto em uma extração normal de óleo essencial (0,0 % etanol), por exemplo de 1000 g de folhas da mesma amostra, é obtido 12,0 g (1,2 %) de óleo essencial e 8,3 g de linalol, no referido ponto da presente discussão pode ser obtido 13,0 g de óleo e 8,5 g de linalol. Apesar de obter-se uma massa de linalol maior (2,4 %), a diferença é muito pequena, talvez não compensando o gasto de solvente na extração, dependendo da quantidade de óleo que se quer extrair.

FIGURA 25. Variação do rendimento de óleo essencial em função da mudança da constante dielétrica do meio, pela concentração etanólica.

FIGURA 26. Variação da concentração de linalol no óleo essencial em função da mudança da constante dielétrica do meio, pela concentração etanólica.

TABELA 9. Valores da variação de rendimento do óleo essencial e seu conteúdo de linalol extraído em diferentes constantes dielétricas (concentração etanólica). A massa de folhas da qual foi extraído o óleo foi fixada em 50 g.

Concentração de etanol		Rendimento de óleo (%)	Concentração de linalol no óleo	
(mol L ⁻¹ . 10 ⁻¹)	(%) v/v		(mol L ⁻¹)*	(%) m/m
0,00	0,0	1,2	4,00	69,4
0,86	0,5	1,3	3,71	65,1
1,71	1,0	1,4	2,84	50,3
2,57	1,5	1,1	2,31	40,9

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 20.

3.8. Reação de Acetilação do Óleo Essencial

O principal produto da acetilação do óleo essencial da *Aniba duckei* K. é o acetato de linalila, FIGURA 1, cuja reação é ilustrada na FIGURA 27.

FIGURA 27. Reação de acetilação do linalol do óleo essencial da *Aniba duckei* K. pelo anidrido acético, mediante o acetato de sódio sob temperatura de 120 °C.

Como pode ser observado na FIGURA 27, o linalol do óleo essencial reage com o anidrido acético formando o acetato de linalila e o ácido acético [7,56], o qual eleva a acidez do meio reacional reduzindo assim a velocidade de reação. Para evitar que isto ocorra, adiciona-se o acetato de sódio que atuará como agente tamponante, controlando desta forma a acidez gerada.

O produto da acetilação do óleo essencial da destilaria foi submetido às análises físicas, espectroscópicas e cromatográficas para caracterização do acetato de linalila formado, como serão visto nos próximos itens. Também foram analisados aspectos cinéticos da reação e a influência da temperatura, os quais estão apresentados nos itens posteriores.

3.9. Propriedades Físicas do Óleo Essencial Acetilado

Algumas propriedades físicas dos óleo essencial acetilado estão descritas na TABELA 10.

TABELA 10. Propriedades físicas dos óleos essenciais acetilados nas condições do item 2.2.10.1.

Propriedades físicas	Óleo acetilado
Densidade a 25 °C (g mL ⁻¹)	0,91
Índice de refração (25 °C)	1,4503
Solubilidade em etanol (70 %)	1:2
Cor	Amarelo
Aparência	Límpido

Apesar do óleo acetilado ser um pouco mais denso que o óleo original, são mantidas, praticamente, as mesmas características físicas.

3.10. Análises Espectroscópicas do Óleo Essencial Acetilado

3.10.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho

Os espectro na região do infravermelho do óleo acetilado é apresentado na FIGURA 28. Aparecem dois picos característicos nas

regiões de 1750 e 1200 cm^{-1} , atribuídos aos estiramentos do grupo carboxilato do acetato de linalila, confirmados pelo espectro do padrão de acetato de linalila, na mesma figura, e também por dados da literatura ^[52].

FIGURA 28. Espectros na região do infravermelho de: (A) óleo de destilaria antes da acetilação; (B) óleo acetilado nas condições descritas no item 2.2.10.1 e (C) padrão de acetato de linalila.

O espectro A referente ao óleo essencial (óleo da destilaria) antes da acetilação não apresenta tais picos. Possui caracteristicamente os estiramento de O-H em 3400 cm^{-1} e C-O em 920 cm^{-1} , além dos estiramentos C-H alifáticos em 2900 cm^{-1} e vinílicos em 3090 cm^{-1} , que caracterizam o linalol. Assim, a intensa diminuição do pico de OH e o aparecimento das fortes bandas em 1750 e 1200 cm^{-1} , no espectro B,

comprovam a formação do acetato no óleo essencial, caracterizado pelo espectro C como acetato de linalila.

Na TABELA 11 estão descritas as principais bandas e modos vibracionais dos espectros B e C da FIGURA 28.

TABELA 11. Principais bandas de absorção e modos vibracionais do óleo acetilado e do padrão acetato de linalila na região do infravermelho.

Composto (acetato de linalila)	Tipo de ligação	Grupo Funcional	Tipo de deformação	Absorção acetato de linalila (cm ⁻¹)	Absorção óleo (cm ⁻¹)
	C—H	Vinil	Axial	3089,8	3088,2
	C—H	Metil	Axial	2926,8	2927,2
	C=O	Carboxilato	Axial	1739,1	1738,6
	C=C	Vinil	Axial	1644,7	1644,7
	C—O	Carboxilato	Axial	1246,3	1245,5

3.10.2. Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas

Os espectros de massas confirmaram a formação do acetato caracterizando-o como acetato de linalila após a acetilação.

A FIGURA 29 encerra os cromatogramas do óleo essencial antes da acetilação, após acetilado e do padrão de acetato de linalila. É notável nestes cromatogramas a eficiência do método cromatográfico empregado nas condições fixadas no item 2.2.8., pois a resolução entre os picos foi satisfatória.

O uso da coluna LM 100 nas condições citadas no item 2.2.8, apresentaram a vantagem de mais uma vez poder ser aplicada tanto nas análises qualitativas quanto nas análises quantitativas dos óleos acetilados, proporcionando um menor tempo de análise e uma ótima resolução dos picos cromatográficos, apesar dos picos de interesse estarem separados por um curto tempo.

Os picos cromatográficos 1 dos cromatogramas A e B com tempo de retenção em 4,3 e 3,9 min, respectivamente, correspondem ao linalol do óleo da destilaria e ao linalol residual da reação de acetilação. A diferença entre esses tempos de retenção é devido à diferença de programação da temperatura aplicada para a análise do óleo acetilado. Os picos 2 dos cromatogramas B e C, com tempo de retenção em 4,1 min, correspondem ao acetato de linalila do óleo acetilado, como componente majoritário, e do padrão. Todos os picos referidos a foram identificados por meio dos seus espectros de massa (FIGURA 30).

A comparação entre os cromatogramas obtidos do óleo essencial da destilaria (FIGURA 29A) e do óleo após o processo de acetilação (FIGURA 29B) provou que o processo de acetilação é viável para a modificação química do óleo essencial pois o acetato de linalila formado é o componente majoritário do óleo modificado.

FIGURA 29. Cromatogramas do óleo essencial: (A) antes da acetilação, (B) após a acetilação e (C) padrão acetato de linalila. Os tempos de retenção dos picos 1, 1, 2 e 2 são, respectivamente: 4,3, 3,9, 4,1 e 4,1 min. Condições: coluna LM100 de polietilenoglicol entrecruzada (10m X 0,18mm ID X 0,20 μ m de espessura de filme); razão de divisão (S_R) 1:43. Temperatura programada: cromatograma A, 80° a 7° C min⁻¹ até 150° C e depois à 12° C min⁻¹ até 250° C (1 min); cromatogramas B e C, 80° a 10° C min⁻¹ até 118° C, depois a 2° C min⁻¹ até 121° C e a 15° C min⁻¹ até 250° C (1 min).

Na FIGURA 30 estão contidos os espectros de massas referentes ao linalol e ao acetato de linalila. O espectro A é referente ao pico 1 do cromatograma A na FIGURA 29, o espectro B se refere ao pico 2 do mesmo cromatograma e o espectro C ao pico 1 do cromatograma B na mesma FIGURA. O espectro A caracteriza o linalol residual, pois apresenta as mesmas fragmentações, vizinhanças e abundâncias já vistas anteriormente nos espectros da FIGURA 12. As fragmentações, vizinhanças e intensidades que aparecem no espectro do composto formado, pico 2 do cromatograma A da FIGURA 29, são exatamente as mesmas que aparecem no espectro C, do padrão de acetato de linalila, e também confirmadas pelos dados da literatura ^[52].

Os espectros de massas B e C apresentaram os picos dos íons moleculares $m/z = 196$ $[M^+]$, confirmando como $C_{12}H_{14}O_3$ a fórmula molecular dos componentes 2 nos cromatogramas B e C da FIGURA 29.

O pico $m/z = 154$ $[M - 42]$ é característico da perda de uma molécula neutra de ceteno ($CH_2=C=O$), resultante do possível mecanismo envolvido na transferência de um hidreto do radical acetato para o oxigênio da carbonila, pelo rearranjo de McLafferty ^[26] (FIGURA 31).

FIGURA 30. Espectros de massas de: (A) composto do pico 1 dos cromatogramas A e B da FIGURA 29; (B) composto do pico 2 dos cromatograma B da FIGURA 29 e (C) padrão de acetato de linalila, pico 2 do cromatograma C da FIGURA 29.

FIGURA 31. Rearranjo de McLafferty.

Desta forma, a espectroscopia de massas acoplada à cromatografia gasosa confirmou o que anteriormente foi proposto pela espectroscopia no infravermelho, ou seja a formação indubitável do acetato de linalila.

3.11. Análise Cromatográfica Quantitativa do Acetato de Linalila

Considerando as mesmas justificativas usadas para a quantificação do linalol, utilizou-se o padrão externo como método quantitativo. A concentração de acetato de linalila foi determinada pela equação da reta gerada na curva da FIGURA 32. Assim, nas condições de reação expostas no item 2.2.10.1. obteve-se 49 % de acetato de linalila formado no óleo acetilado da destilaria, que continha 90 % de linalol ^[80]. Se for extrapolado o

percentual de linalol para 100 %, a reação, nas condições do item 2.9, pode render 54 % de acetato de linalila.

FIGURA 32. Curva analítica do acetato de linalila nas concentrações 0,89,

1,77, 2,66 e 3,54 mol L⁻¹ . 10⁻³, para a determinação do acetato de linalila formado na reação de acetilação.

3.12. Aspectos Cinéticos da Reação de Acetilação

O estudo cinético de uma reação é de grande interesse no campo da tecnologia química, pois o conhecimento cinético de uma reação é essencial para a análise da sua importância na preparação de substâncias e num possível uso industrial. Conhecendo-se os parâmetros cinéticos de uma reação pode-se escolher condições de trabalho que otimizem o sistema reativo.

Para o estudo da reação de acetilação do linalol considerou-se a reação como um processo de pseudoprimeira ordem, devido ao excesso de anidrido acético no sistema (1:9,3), onde o decaimento do linalol foi monitorado por cromatografia gasosa. Os resultados obtidos para a variação do teor de linalol alcançados durante a acetilação e a formação do acetato de linalol em função do tempo de reação, na isoterma de 120°C são apresentados na Figura 33.

FIGURA 33. Curvas de decaimento de linalol (A) e de formação do acetato de linalila (B) na reação de acetilação a 120 °C.

Para o estudo do tempo e da ordem da reação verificou-se a cinética da reação. Manteve-se a temperatura constante de 120 °C e determinou-se a concentração de acetato de linalila formado em seis tempos de reação.

É considerado na FIGURA 33 que o percentual máximo de linalol corresponde à sua área do pico cromatográfico no tempo 0,0 min, cuja concentração de linalol é máxima quando nem um mol de linalol reagiu,

enquanto que o percentual máximo de acetato de linalila formado corresponde à sua área no tempo de 162 min. Todos os valores estão descritos na TABELA 12.

Observando o ponto de interseção entre as curvas A e B da FIGURA 33 pode-se perceber que o tempo de meia vida da reação ($1/k$) é 69,77 min. O triplo do valor do tempo de meia vida é um indicativo de que a reação chegou no seu estágio final, o que foi aproximadamente alcançado pelos dados experimentais.

TABELA 12. Valores das áreas dos picos cromatográficos de linalol e acetato de linalila na reação de acetilação.

Tempo (min)	Área de linalol	Percentual de linalol (%)	Área de acetato de linalila	Percentual de acetato de linalila (%)
0,0	57473,0	100,0	0,0	0,0
42,0	46663,0	81,2	13267,5	40,7
72,0	36332,5	63,2	20143,0	61,8
102,0	27885,0	48,5	25164,0	77,2
132,0	21739,5	37,8	28530,0	87,6
162,0	17904,0	31,2	32580,7	100,0
192,0	13642,0	23,7	32065,0	98,4

O tratamento linear da cinética da reação de acetilação é apresentado na FIGURA 34, onde a constante de velocidade observada para a reação (k_o) foi determinada pela inclinação da reta do logaritmo natural da concentração de linalol em função do tempo de reação. O valor encontrado

para a constante de velocidade da reação, na temperatura de 120° C foi de 0,01 min⁻¹.

FIGURA 34. Curva logarítmica da concentração de linalol em função do tempo de reação.

O ajuste da curva A da FIGURA 33 (percentagem de linalol residual (L/L_0 %) em função do tempo de reação (min)), considerando o modelo exponencial (FIGURA 35), resultou nos valores de 0.0073 min⁻¹ para a constante de velocidade observada (k_0) e 103,3 para o fator pré-exponencial. O fator pré-exponencial depende da temperatura da reação e da natureza dos reagentes. Nota-se que o k_0 , neste caso, aproxima-se do k_0 da curva de decaimento linear. Embora, sendo valores concordantes é mais considerado o k_0 exponencial, pois é mais real.

FIGURA 35. Curva exponencial da concentração de linalol em função do tempo de reação.

3.13. Variação da Temperatura de Reação

Para a verificação da influência da temperatura na formação do acetato de linalila o óleo essencial foi acetilado em quatro diferentes temperaturas, fixando-se a mesma razão molar fixada no estudo cinético, sob pressão atmosférica.

A FIGURA 36 expressa a variação da concentração de acetato de linalila formado em função do aumento da temperatura.

FIGURA 36. Variação da concentração de acetato de linalila em função da temperatura.

Até o terceiro ponto da curva, cuja temperatura é de 130 °C, houve um aumento considerável na formação do acetato de linalila. Porém, no quarto ponto houve um abaixamento na concentração, indicando que acima de 130 °C há um declínio no rendimento da reação. Pelos valores descritos na TABELA 13 o rendimento máximo de reação, considerando um óleo essencial com 100% de linalol, seria de 61,8 %. Assim, o melhor rendimento de reação é obtido na temperatura de 130 °C, considerando a relação molar de linalol, anidrido acético e acetato de sódio de 1:9:1.

TABELA 13. Valores da concentração de acetato de linalila formado em função do aumento da temperatura de reação.

Temperatura (°C)	Concentração de acetato de linalila	
	(Mol L ⁻¹)*	(%) m/m
110	1,97	42,0
120	2,24	47,2
130	2,54	55,8
140	2,45	52,8

* Concentração determinada pela equação da reta na curva da FIGURA 31.

---

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

As técnicas empregadas neste trabalho formam um conjunto imprescindível para o estudo analítico dos óleos essenciais. Somando as informações populares à química de bancada e à instrumentação analítica foi possível realizar um trabalho genuíno e original. Os resultados obtidos mostraram a eficiência das técnicas e dos métodos usados. Com as ferramentas disponíveis, foi possível caracterizar o óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans (Pau Rosa) cultivada no seu ambiente natural física e quimicamente. Na identificação do componente majoritário e de seu derivado, bem como suas quantificações as técnicas foram precisas e os métodos eficientes, proporcionando uma excelente performance analítica nas determinações. Diante dos resultados obtidos conclui-se que:

1. As técnicas espectroscópicas foram eficientes para a confirmação da presença de linalol e de seu respectivo acetato após a reação de acetilação. A espectroscopia na região do infravermelho indicou a presença desses componentes, principalmente pelas vibrações moleculares de seus

grupos funcionais contendo oxigênio. A espectroscopia de massas mostrou as fragmentações, intensidades e vizinhanças dos picos característicos das moléculas de linalol e acetato de linalila. A identificação de tais moléculas foi confirmada por meio de RMN ^{13}C , mostrando os mesmos deslocamentos químicos de seus padrões.

2. A análise térmica do óleo essencial, pela técnica de calorimetria exploratória diferencial, abriu um novo caminho para análises de óleos essenciais. Os resultados obtidos foram inéditos para o óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans, possibilitando sugerir inclusive a determinação quantitativa de linalol por DSC.

3. O estudo dos métodos de extração do óleo essencial possibilitou verificar os melhores parâmetros para o processo extrativo em função do melhor rendimento e da concentração de linalol. A análise da influência da força iônica mostrou que na sua presença a extração do óleo essencial é mais efetiva, devido à ação do efeito “salting out”. Com isso, evita-se que parte do óleo seja desperdiçado no hidrolato, o qual é descartado na natureza podendo causar danos ambientais, além de aumentar a concentração de linalol.

4. O maior conteúdo de óleo essencial e de linalol nas folhas em relação ao óleo do lenho mostrou que é mais racional e rentável a extração em folhas. Além de evitar a extinção da espécie, a extração do óleo de folhas proporciona maior produção, especialmente se for executado um

manejo florestal adequado com um sistema de podas em períodos pré-estabelecidos. Pois, esse sistema proporciona à planta maior revigoração e maior volume de folhas. Todo esse processo é ainda mais vantajoso em um processo de cultivo em larga escala. Além disso, o óleo essencial pode ser mais valorizado por ter um processo produtivo ecologicamente correto,.

5. A modificação química promovida no óleo essencial, juntamente com os estudos cinéticos e da alteração da temperatura, mostraram que a reação é viável, apresentando um bom rendimento. Dessa forma, é possível inserir valor agregado no óleo essencial, possibilitando uma alternativa em potencial para geração de renda nas várias comunidades que dependem da atividade extrativista e, por conseguinte, para o crescimento econômica da Amazônia e da nação.

6. A análise do hidrolato do óleo essencial por cromatografia gasosa, usando a coluna POLYH4-MD, apresentou dados inéditos para esse tipo de matriz. Foi possível a análise precisa do linalol no hidrolato em função do tempo de extração do óleo e em função da presença de diferentes forças iônica. A grande vantagem do método cromatográfico usando a coluna referida anteriormente é o fato de a análise poder ser executada diretamente na matriz aquosa, evitando, assim, um processo de extração dos componente nessa matriz, o que aumenta o tempo da análise e o consumo de reagentes. Dessa forma, a análise de hidrolatos pode ser perfeitamente otimizada e realizada com uma alta performance.

4.1. Perspectivas de Trabalhos Futuros

Dentre os estudos a serem realizados futuramente, podem ser destacados:

1. Extração do óleo essencial por fluido supercrítico e verificação de possíveis alterações na sua composição química e propriedades físicas.
2. Estudo da influência da força iônica na faixa de 0,01 a 0,1 mol L⁻¹ para verificação da constante de equilíbrio de estabilidade.
3. Determinação quantitativa por DSC do teor de linalol no óleo essencial em função de sua temperatura de ebulição.
4. Aplicação do óleo acetilado como fixador em produtos cosméticos.
5. Estudo analítico da racemização do linalol no óleo essencial da espécie cultivada por cromatografia gasosa, utilizando colunas quirais.
6. Promover a modificação química por fosforilação, formiação, nitração e sulfonação do linalol, para obtenção de novos compostos com possíveis aplicações industriais.
7. Determinações cinéticas em várias isotermas na acetilação do óleo essencial pela rota do anidrido acético/acetato de sódio para a determinação da energia de ativação na reação e estudo do mecanismo da reação.
8. Estudo cinético com outras rotas de reação, por exemplo com o uso de ácido acético glacial ou ácido metanosulfônico.
9. Estudo de outros componentes hidrossolúveis do óleo essencial no hidrolato.

---

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] GOTTIEB, O.R.; Kaplan, M.A. Amazônia: Tesouro químico a preservar. **Ciência Hoje**, Editora Abril, 1990. V.11.n.61. p.19 - 21.
- [2] AZEREDO, O.B. **Instituto de Óleos, Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas, Ministério da Agricultura**, Boletim 15, p. 137-208, 1958.
- [3] GOTTLIEB, O.R.; FINEBERG, M.; GUIMARÃES, M.L.; MAGALHÃES, M.T.; MARAVALHAS M. **Associação Brasileira de Pesquisas sobre Plântas Aromáticas e Óleos Essenciais**, Boletim 11, p. 1-13, 1965.
- [4] MITJA, D.; VIAL-DEBAS, C.; EMPERAIRE, L. **La Foret en Jeu. L'extrativisme em Amazonie Centrale**. Paris, Éditions de l'Orstom, 1996. p.93-103, 179-88.
- [5] COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5.ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1994, p.1031.
- [6] SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 1ª., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 1999. 821p.
- [7] BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza, Editorial Acribia S. A., 1991. p.594.
- [8] CRAVEIRO, A.A. et al. **Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste**, Fortaleza: EUFC, 1981. 210p.
- [9] COSTA, A .F. **Farmacognosia**, 5a ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. V.1. 1031p.
- [10] KIRK - OTHMER. **Encyclopedia of Chemical Technology**, 3 th ed., v. 16, 1981, 307 332p.
- [11] ROBLES, C. and GARZINO, S. Essential oil composition of *Cistus Albidus* Leaves. **Phytochemistry**, v. 48, n.8, p. 1343 - 1345, 1998.

- [12] CAVICCHIOLI, M. **Análise de óleos essenciais de frutas cítricas por cromatografia gasosa de alta resolução (colunas capilares)**. São Carlos, 1986. 38p. Monografia (Curso de Graduação) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [13] DISTASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo, Editora da UNESP, 1996. p.230.
- [14] MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais, guia de seleção e emprego de plantas medicinais do Nordeste do Brasil**. Fortaleza, Edições UFC, 1989. p.164.
- [15] FUH, M.R. et al. Preparative-scale supercritical-fluid extraction of essential oils from *Syzygium aromaticum* (Clove bud). **Int-Lab.**, p. 26, 1996
- [16] KOLLMANNBERGER, H.; NITZ, S. The flavour-composition of supercritical gas extracts: 2. Allpice (*Pimenta dioica*). **Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel**; p.116-126, 1993.
- [17] FAJARDO, G. et al. Comparative study of the oil and supercritical CO₂ extract of Mexican pimento (*Pimenta dioica* Merrill). **J. Essent. Oil Res.**, v. 9. N. 2, p. 181- 185, 1997.
- [18] KOROLKOVAS, A. e BRUCKHALTER, J.H. **Química Farmacêutica**, Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 1988. 783p.
- [19] SILVA, R.A.D. **Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil**, São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1926, 1149p.
- [20] ROBLES, C. and GARZINO, S. Essential oil composition of *Cistus Albidus* Leaves. **Phytochemistry**, v. 48, n.8, p. 1343 - 1345, 1998.
- [21] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part II. Determination of 1,8 - cineol in Oil of Cardamom, Rosemary, Sage and Spike Lavender. **Analyst**, v. 98, p. 616 - 623, 1973.
- [22] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part IV. Determination of Egenol in Oil of Bay (*Pimenta racenosa*, Miller). **Analyst**, v. 100, p. 593 - 600, 1975.
- [23] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part XIII. Determination of Octan-3-ol in Oils of Peppermint and Mint. **Analyst**, v. 113, p. 657 - 659, 1988.

- [24] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part XIV. Monographs for five Essential Oils. **Analyst**, v. 113, p. 1125 - 1136, 1988.
- [25] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part XV. Determination of "Rhodinol" in Oils of Geranium. **Analyst**, v. 115, p. 459 - 463, 1990.
- [26] SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5.ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., 1994. 387p.
- [27] LAWRENCE, B. M.; REYNOLDS, J.R. Progress in essential oils. **Perfumer & Flavorist**, v.9, p. 87-8, 1984.
- [28] WEI, R. B.; YUAN, Z. Y.; LI, H. X. Solid acid-catalysed synthesis of linalyl acetate in the presence of HMCM-41. **Gazzeta Chimica Italiana**, v.127, p.811-3, 1997.
- [29] PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A.; OLIVEIRA, A. B. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against Cattle-tick (*Boophilus microplus*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.9, n.5, p.193-7, 1998.
- [30] BELAICHE, T.; TANTAOUI-ELARAKI, A.; IBRAHIMY, A. Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. **Sciences Aliments**, v.15, p.571-8, 1995.
- [31] ELISABETSKY, E.; MARSCHNER J.; SOUZA, D. O. Effects of linalool on glutamatergic system in the rat cerebral-cortex. **Neurochemical Research**, v.20, p. 461-5, 1995.
- [32] SUGAWARA, Y.; HARA, S.; TAMURA, K.; FUJII, T.; NAKAMURA, K.; MASUJIMA, T.; AOKI, T. Sedative effect on humans of inhalation of essential oil of linalool: sensory evaluation and physiological measurements using optically active linalools. **Analytica Chimica Acta**, v.365, p. 293-9, 1998.
- [33] ELISABETSKY, E.; BRUM, L. F. S.; SOUZA, D. O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine**, v.6, p.107-13, 1999.

- [34] RAMOS, M.C.K.V.; AQUINO NETO, F.R.; SIANI, A.C.; FRIGHETTO, N. Distribuição enantiomérica do linalol em óleos essenciais de nove espécies aromáticas por CGAR-Q. In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 10., Santa Maria, 1999. **Livro de Resumos**. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 1999. ref.CE-19.
- [35] CASABIANCA, H.; GRAFF, J.B.; FAUGIER, V.; FLEIG, F.; GRENIER, C. Enantiomeric distribution studies of linalool and linalyl acetate. A powerful tool for authenticity control of essential oils. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.21, p.107-12, 1998.
- [36] FROST, A.A.; PEARSON, R.G. **Kinetics and Mechanism**, 2.ed, New York, John Wiley & Sons, 1961.
- [37] VIEIRA, A.M. Pesquisas Florestais. **Boletim do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, v.14, p.1-15., 1979.
- [38] MAGALHÃES, L.M.S.; ALENCAR, J.C. Fenologia do pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans), Lauraceae, em floresta primária na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v.9, n.2, p.227-32, 1979.
- [39] MINISTÉRIO DO INTERIOR - SUPERINTENDÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA - DIVISÃO DE RECURSOS FLORESTAIS, SEÇÃO DE ESTUDOS E PROJETOS. Trabalho apresentado pela SUDAM ao 5.º Congresso Internacional de Óleos, em São Paulo, 1971.
- [40] ARAUJO, V.C.; CORRÊA, G.C.; MAIA, J.G.S.; SILVA, M.L.; GOTTLIEB, O.R.; MARX, M.C.; MAGALHÃES, M.T. Óleos essenciais da Amazônia contendo linalol. **Acta Amazonica**, v.1, p.44-7, 1971.
- [41] Analytical Methods Committee. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part IV. Determination of Eugenol in Oil of Bay (*Pimenta racenosa*, Miller). **Analyst**, v. 100, p. 593 - 600, 1975.
- [42] LAITNEN, H.A.; HARRIS, W.E. **Chemical Analysis**, 2.ed, Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, LTD., 1975, 611p.
- [43] SCHREIER, P. **Analysis of volatiles methods and applications**. Berlin: Walter de Gruyter & Co., 1984. 469p.
- [44] BRAITHWAITE, A. and SMITH, F.J. **Chromatographic Methods**, 5ª ed., New York: Blackie academic & Professional, 1996. 559p.
- [45] GUIOCHON, G. and GUILLEMIN, C.L. **Quantitative gas chromatography for laboratory analyses and on-line process control**, New York: Elsevier Science Publishing Company Inc., 1988. P. 653 - 655.

- [46] VASCONCELOS, E.C. **Comparação entre métodos de extração, "clean-up" e análise cromatográfica de friedelan-3-ol e friedelina em folhas de *Maytenus aquifolium* Martius (Celastraceae).** São Carlos, 1996. 80p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [47] LANÇAS, F.M. **Cromatografia Gasosa.** São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 1993, 254p.
- [48] DIAS, E.B.S. **Análise de Pesticidas Organoclorados em Óleos Vegetais por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (HRCG).** São Carlos, 1998. 138p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [49] RALPH, L.S. et al. **Identificação sistemática de compostos orgânicos. Manual de Laboratório.**, 6ª ed., Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Dois, 1983, p. 367 - 378.
- [50] CHAAR, J.S. **Caracterização de ácidos húmicos extraídos de resíduos de tratamento da água e de sedimentos do Rio Negro.** São Carlos, 1997. 55p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [51] BUDZIKIEWICZ, H.; DJERSSAI, C.; WILLIAMS, D.H. **Struture elucidation of natural products by mass spectrometry. II: Steroids, Terpenoids, Sugars and Miscellaneous class.** Amsterdam: Holden-Day Inc., 1964. 306p.
- [52] ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy.** Illinois, Allured Publishing Corporation, 1995. 469p.
- [53] MOUCHREK FILHO, V.E. **Eletrodo de grafite pirolítico quimicamente modificado por vermelho de alizarina S. Estudos voltamétricos e aplicação analítica.** São Carlos, 1997. 102p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [54] COSTA, A.F. **Farmacognosia.**, 5ª ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. V. III, p. 190 - 193.
- [55] IONASHIRO, M. E GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, v. 26, n. 121, p. 17 - 24, 1980.
- [56] JONES, K. and SEYLER, R. Differential Scanning Calorrimetry for Boiling Point and Vapor Pressure. **TA Instruments.** Thermal Analysis & Rheology.

- [57] WENDLANT, W.W. **Thermal Analysis – in Chemical Analysis**, 3. ed. New York, John Wiley, 1986. 814p.
- [58] CLEVENGER, J.F. Apparatus for volatile Oil Determination. **American Perfumer and Essential Oil Review**. p. 467-468, 1928.
- [59] SÁ, S.M.O. **Síntese e Caracterização de Compostos Derivados do Óleo de Babaçú (*Orbignya phalerata*)**. São Carlos, 1999. 98p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [60] BELOV, V.N.; LAVROVA, T.V.; VASHKEVICH, N.G.; MIKHAILOV, A.YU. Extraction of essential oils from plant raw material by steam distillation. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v.67, p.154-6, 1994.
- [61] MATOS, F.J.A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 1988. p.128.
- [62] CIA, X.; DU, D.; JIN, Y.; QIAN, Y. Boiling point and molar enthalpy of vaporization of fluorint FC-70 $N(C_5F_{11})_3$ detemined by static-sample and DSC. **Journal of Thermal Analysis**, v.45, p.193-7, 1995.
- [63] BUDAVARI, S. et al. **The Merck Index**. An encyclopedia of chemicals, Drugs, and biologicals. 12^a ed. Whitehouse Station, NJ. Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc. 1996, p. 3944.
- [64] ALDRICH CHEMICAL COMPANY, INC. **Catalog Handbook of Fine Chemicals Aldrich**. Milwankee, USA, 1999. 2726p.
- [65] CHAAR, J.S.; CHIERICE, G.O.; GALHIANE, M.S.; MOUCHREK-FILHO, V.E.; MELO, C.M.S. Extração do Óleo Essencial da *Aniba duckei* K. Plantada em Ambiente Natural. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15., Águas de Lindóia, 1998. **Livro de Resumos**. Águas de Lindóia, 1998. ref.03.168.
- [66] CHAAR, J.S.; CHIERICE, G.O.; GALHIANE, M.S.; DOMINGOS-SILVA, D.; INOCENTINNI, A.P.; MOUCHREK-FILHO, V.E. Quantificação de Linalol no Óleo Essencial da *Aniba duckei* K. Plantada em Ambiente Natural. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 22., Poços de Caldas, 1999. **Livro de Resumos V.2**. Poços de Caldas, 1999. ref.PN-042.
- [67] CHAAR, J.S.; DOMINGOS-SILVA, D.; INOCENTINNI, A.P.; MOUCHREK-FILHO, V.E.; GALHIANE, M.S.; CHIERICE, G.O. Essential Oil from Leaves of the *A. duckei* Kosterm from National Park Ducke. In: IUPAC INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIODIVERSITY, 2., Belo Horizonte, 1999. **Programme and Abstracts**. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 1999. ref.PN-042.

- [68] UGAZ, O. L., **Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de produtos naturales**. Lima, Fondo Editorial de la Pontificia de la Universidad Católica del Perú, 1994, p. 23-42.
- [69] POUCHERT, C.J. **The Aldrich Library of FT-IR Spectra Vapor Phase**. 1.ed, United State of America, 1985. v.3, p.2002.
- [70] SYDOW, E. Mass spectrometry of terpenes II. Monoterpene alcohols. **Acta Chemica Scandinavica**, v.17, p.2504-12, 1963.
- [71] GOTTLIEB, O.R.; KUBITZKI, K. Chemosystematics of *Aniba*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.9, p.5-12, 1981.
- [72] DOMINGOS-SILVA, D.; GALHIANE, M.S.; CHAAR, J.S.; MOUCHREK-FILHO, V.E.; CHIERICE, G.O. Nova Coluna Capilar (Polyh4-Md) com Aplicação do Polímero Poliuretano derivado do Óleo de Mamona (Castor Oil)- HRCG. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CROMATOGRAFIA, 8., Buenos Aires, 2000. **Livro de Resumos**. Buenos Aires, 2000. ref.V-28.
- [73] GALHIANE, M.S.; DOMINGOS-SILVA, D.; CHIERICE, G.O. Estudo da variação de h para polímero poliuretano derivado do óleo de mamona (castor oil) com diferentes entrecruzamentos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CROMATOGRAFIA, 8., Buenos Aires, 2000. **Livro de Resumos**. Buenos Aires, 2000. ref.V-29.
- [74] INNOCENTINI, A.P.; DOMINGOS-SILVA, D.; GALHIANE, M.S.; CHIERICE, G.O. Quantificação do Composto Majoritário do Óleo Essencial da Espécie *Aniba Canelilla*. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CROMATOGRAFIA, 8., Buenos Aires, 2000. **Livro de Resumos**. Buenos Aires, 2000. ref.V-30.
- [75] KOLTHOFF, I.M.; SANDELL, E.B.; MEECHAN, E.J.; BRUCKENSTEIN, S. **Quantitative Chemical Analysis**. 4.ed. London, The Macmillan Company, 1969. p.1199.
- [76] CHAAR, J.S.; CHIERICE, G.O.; GALHIANE, M.S.; MOUCHREK-FILHO, V.E.; DOMINGOS-SILVA, D. Extração do óleo essencial da espécie *Aniba duckei* K. com força iônica controlada, In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 10., Santa Maria, 1999. **Livro de Resumos**. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 1999. ref.Eq-1.
- [77] NICHOLSON, S.S. Toxicity of Insecticides and Skin Care Products of Botanical Origin. **Veterinary Dermatology**, v. 6, p. 139-43, 1995.
- [78] DEAN, J.A. **Lange's Handbook of Chemistry**. 20.ed. New York, Mcgraw-Hill Book Company, 1979. p.1486.

- [79] CHAAR, J. S.; CHIERICE, G. O.; GALHIANE, M. S.; MOUCHREK-FILHO, V. E.; DOMINGOS-SILVA, D. Influência da mudança da constante dielétrica na extração do óleo essencial da espécie *Aniba duckei* K., In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 10., Santa Maria, 1999. **Livro de Resumos**. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 1999. ref.CE-20.
- [80] CHAAR, J.S.; DOMINGOS-SILVA, D.; GALHIANE, M.S.; MOUCHREK-FILHO, V.E.; CHIERICE, G.O. Quantificação do Acetato de Linalila Formado pela Acetilação do Óleo Essencial Extraído da *Aniba Duckei* Kostermans. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CROMATOGRAFIA, 8., Buenos Aires, 2000. **Livro de Resumos**. Buenos Aires, 2000. ref.V-31.

CURRICULUM VITAE RESUMIDO

Jamal da Silva Chaar, nasceu em Portel (PA) em 14/03/69. Graduou-se como Bacharel em Química pela Fundação Universidade do Amazonas (FUA) em Abril de 1992. Foi contratado pela indústria fotoquímica SONORA S.A. em agosto/92 como Analista Químico, onde atuou até fevereiro/94. Concursado e lotado no Departamento de Química pela FUA como Professor de Química Analítica, desde março/1994.

Concluiu o curso de Pós-Graduação em Química, nível de Mestrado, área de concentração Química Analítica, em junho de 1997, no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende. Foi admitido no Programa de Pós-Graduação em Química, nível de Doutorado, área de concentração Química Analítica, em agosto de 1997, no mesmo Instituto sob a orientação do Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice.

Desde 1995 publicou 15 trabalhos em Congressos Nacionais, 3 trabalhos em Congressos Internacionais.