

## **Extração e análise cromatográfica do óleo essencial de Noz Moscada do Brasil (*Cryptocarya mandioccanna*)**

### ***Extraction and chromatographic analysis of Brazilian nutmeg essential oil (*Cryptocarya mandioccanna*)***

*Renato Crisóstomo<sup>1</sup>, Caetano Dartiere Zulian Fermينو<sup>1</sup>, Marcelo Telascrea<sup>1</sup>, Alberto José Cavaleiro<sup>2</sup>, Márcia Ortiz Mayo Marques<sup>3</sup>, Roselaine Facanalli<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup> Universidade Sagrado Coração de Jesus - UNISAGRADO, Bauru/SP; <sup>2</sup>Instituto de Química de Araraquara - UNESP; <sup>3</sup>Instituto Agrônômico de Campinas - IAC*

*\*Autor para correspondência: renato.crisostomo@unisagrado.edu.br (autor principal)*

## **RESUMO**

Este trabalho apresenta as extrações de óleos essenciais de folhas de *Cryptocarya mandioccanna* e a identificação dos seus principais componentes por técnicas cromatográficas e por cálculos de índices de retenção. As etapas percorridas foram a aquisição do material vegetal no IQ Unesp de Araraquara, a extração por arraste a vapor utilizando aparato tipo Clevenger. Foram realizadas três extrações, com tempos diferentes de 30 minutos, 1 e 2 horas. As amostras dos óleos essenciais obtidos foram coletadas, acondicionadas e armazenadas. Em seguida houve a identificação e comparação dos principais componentes dos óleos essenciais através dos resultados colhidos nas análises por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas feitas pelo Instituto Agrônômico de Campinas - IAC nas três extrações realizadas. Pelos dados, pode-se verificar que o número de substâncias identificadas foi um pouco maior na amostra obtida na extração de 60 minutos (88,19%), quando comparada com as amostras de 30 (83,38%) e 120 minutos (84,06%) que estão mais próximas. Nas amostras analisadas, foram identificados cerca de 54 picos eluídos na amostra de 30 minutos, 37 picos eluídos na amostra de 60 minutos e 54 picos eluídos na amostra de 120 minutos. O spathulenol, um terpeno, foi a substância obtida com a maior rendimento: 44,60% na amostra de 30 minutos, 46,26% na amostra de 60 minutos e 45,80% na amostra de 120 minutos. O tempo de extração varia de espécie vegetal para espécie vegetal. No caso, não houve mudanças significativas com o aumento do tempo de extração. Portanto, com extrações de 30 minutos, se tem um bom perfil de óleo para identificação por CG-EM e índices de retenção. Dessa forma, conseguiu-se fechar e atender todos os objetivos propostos. Assim, os dados sugerem a continuidade dos estudos desse óleo essencial e dos métodos de extração e análise para o aperfeiçoamento das técnicas.

**Palavras-chave:** *Cryptocarya*, óleos essenciais, cromatografia, espectrometria de massas.

## ABSTRACT

*This monograph presents the extraction of essential oils from *Cryptocarya mandioccanna* leaves and the identification of their main components by chromatographic techniques and calculations of retention indices. The steps followed were the acquisition of the plant material at IQ Unesp in Araraquara, and the extraction by steam distillation using a Clevenger-type apparatus. Three extractions were performed, with different times of 30 minutes, 1 and 2 hours. The samples of the essential oils obtained were collected, packaged and stored. Then, the identification and comparison of the main components of the essential oils were carried out through the results collected in the analyses by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry performed by the Agronomic Institute of Campinas - IAC in the three extractions performed. From the data, it can be seen that the number of identified substances was slightly higher in the sample obtained in the 60-minute extraction (88.19%), when compared to the 30- (83.38%) and 120-minute (84.06%) samples, which are closer. In the analyzed samples, approximately 54 eluted peaks were identified in the 30-minute sample, 37 eluted peaks in the 60-minute sample, and 54 eluted peaks in the 120-minute sample. Spathulenol, a terpene, was the substance obtained with the highest yield: 44.60% in the 30-minute sample, 46.26% in the 60-minute sample, and 45.80% in the 120-minute sample. The extraction time varies from plant species to plant species. In this case, there were no significant changes with the increase in extraction time. Therefore, with 30-minute extractions, a good oil profile was obtained for identification by GC-MS and retention rates. In this way, all the proposed objectives were met. Thus, the data suggest that studies of this essential oil and the extraction and analysis methods should continue to be studied to improve the techniques.*

**Keywords:** *Cryptocarya*, essential oils, chromatography, mass spectrometry.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Lauraceae

A família Lauraceae distribui-se ao longo das florestas tropicais e subtropicais do planeta, sendo formada por 49 gêneros e 3.000 espécies que se destacam pelo grande número de espécies economicamente importantes. No Brasil, a família é representada por 22 gêneros e cerca de 390 espécies ocorrendo em diversos tipos vegetais. Em Lauraceae, alguns gêneros são considerados muito próximos, o que dificulta a separação das espécies. (MARQUES; AZEVEDO, 2019)

Espécimes com flores apresentam as melhores condições na determinação de gêneros e espécies, enquanto espécimes com frutos apresentam limitações. Em nível de campo, espécimes estéreis são comuns e tendem a permanecer indeterminadas caso não sejam avaliadas por especialistas da família (WERFF, 1991). Diante desta problemática, a utilização de caracteres vegetativos no reconhecimento das espécies, principalmente com a utilização de chaves de identificação, tem se tornado ferramenta útil para pesquisas e trabalhos técnicos da flora nativa. (URBANETZ; TAMASHIRO; KINOSHITA, 2010) (VÖLTZ; BLUM, 2020)

O potencial econômico desta família vegetal é antigo, há diversas formas de utilização, como fornecimento de madeira especialmente para confecção de móveis e estruturas para construção civil, devido à alta densidade e resistência a agentes biológicos, diversas são as propriedades da madeira, servindo aos mais variados propósitos, extração de óleos essenciais com fins medicinais, farmacológicos e cosméticos e tem importância ecológica fundamental nos ecossistemas, com representantes da categoria de sucessão ecológica secundária tardia e clímax nos ecossistemas terrestres florestais. (BARBOSA; BAITELLO; MORAES, 2012; RIBEIRO, 2019)

### 1.2. O gênero *Cryptocarya*

O gênero *Cryptocarya* é um dos maiores da família Lauraceae composto por cerca de 350 espécies, 13 destes presentes no Brasil, sendo que oito estão presentes na Mata Atlântica: *C. aschersoniana*, *C. granulata*, *C. jacarepaguenses*, *C. micrantha*, *C. mínima*, *C. moschata*, *C. saligna* e *C. mandioccana* (MORAES; MONTEIRO; VENCOSKY, 2004; MORAES, 2007; ZOCCOLOTTI, 2021)

O gênero é conhecido por produzir diversos metabólitos secundários bioativos, como  $\alpha$ -pironas, flavonóides e alcalóides. Entre eles, cerca de 70 alcalóides, incluindo benzilisoquinolinas, fenantroindolizidinas, dibenzopirrolidinas, proaporfinas e alcalóides pavinos, foram identificados até agora em *Cryptocarya*. Os alcalóides da pavina, um pequeno grupo de produtos naturais tetracíclicos que incorporam o núcleo da tetrahydroisoquinolina, têm atraído cada vez mais atenção de seus extensos químicos de produtos naturais, devido às fascinantes atividades

farmacológicas. Foi relatado que este tipo de alcaloides possui atividades inibitórias da AChE, antiproliferativas, antivirais e imunológicas e antiarrítmicas, sugerindo que são uma fonte potencial para a descoberta de medicamentos. (LIU et al., 2022)

Um levantamento realizado com as espécies presentes no Brasil indicou que existem estudos químicos de apenas quatro delas (*C. botelhensis*, *C. mandioccana*, *C. moschata* e *C. saligna*) e que as substâncias comumente encontradas no gênero são alcaloides, flavonoides, terpenoides e esterilpironas. (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000; BANDEIRA; CAVALHEIRO, 2009) (ZOCLOTTI, 2021)

### 1.3. *Cryptocarya mandioccana*

A *C. mandioccana*, espécie arbórea que atinge até 35 metros de altura, apresenta variados nomes populares, entre eles noz-moscada-brasileira, cajati, canela-de-porco e canela-fogo. A espécie é encontrada no Brasil nos estados da Bahia, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo. Seu fruto apresenta sabor e aroma característico, sendo carminativo e ajudando na digestão, além de poder ser usado como um substituto da noz-moscada. As cascas podem ser usadas contra cólicas e diarreia. O chá de suas sementes é utilizado pelas caiçaras contra dor de estômago, além de folhas esmagadas misturadas com água contra dores e cólicas (MORAES, 2007; ZONARO, 2016)

### 1.4. Óleo essencial de *Cryptocarya mandioccana*

Estudos realizados demonstraram que o óleo essencial das folhas de *C. mandioccana* é formado principalmente (48,3%) por isômeros sesquiterpenos (com peso molecular de 204) juntamente com hidroxil- ou epóxi-sesquiterpenos (38,5%) e monoterpenos (10,2%). Através da comparação dos índices de retenção e com espectros de massas, pode-se identificar cerca de 41 componentes individuais. Os picos mais intensos observados nos cromatogramas foram atribuídos ao  $\beta$ -cariofileno (13,79%), espatulenol (10,21%), óxido de cariofileno (7,93%),  $\delta$ -cadineno (6,94%), germacreno D (4,54%), benzaldeído (3,44%) e biciclogermacreno (3,39%). (TELASCREA et al., 2007)

O produto de extração pode variar em qualidade, quantidade e composição de acordo com o clima, composição do solo, órgão vegetal, idade, vegetação e estágio do ciclo (Masotti et al., 2003; Angioni et al., 2006). Portanto, para obter óleos essenciais de composição constante, eles devem ser extraídos nas mesmas condições, no mesmo solo e sob o mesmo clima (BAKKALI et al., 2008; HARO-GONZÁLEZ et al., 2021).

Nos últimos anos, técnicas alternativas para o isolamento de óleos essenciais, como extração subcrítica com água, extração supercrítica com dióxido de carbono e hidrodestilação assistida por micro-ondas, têm sido desenvolvidas (Karakaya et al., 2011; Pavlic et al., 2015). Espera-se que essas novas técnicas de extração sejam econômica e ecologicamente corretas, sustentáveis, altamente eficientes e forneçam produtos de boa qualidade (DRINIĆ et al., 2020; HARO-GONZÁLEZ et al., 2021).

### 1.5. Hidrodestilação

O método de destilação no qual vapor com uma certa quantidade de umidade é pulverizado sobre o material vegetal colocado na grade em um sistema semelhante à destilação de água e transferência de vapor dos óleos essenciais é conhecido como destilação a vapor. A destilação a vapor é essencialmente um processo de destilação de material vegetal com vapor gerado por uma caldeira ou fonte de vapor (HARO-GONZÁLEZ et al., 2021).

No método industrial, o material é colocado em uma placa perfurada acima da entrada de vapor. É fácil controlar quanto vapor é gerado nos mecanismos geradores de vapor. Além disso, como o gerador de vapor está fora da unidade de destilação, a temperatura ambiente na qual o material a ser destilado está localizado é mantida abaixo de 100° C e a ocorrência de deficiências devido ao efeito do calor pode ser evitada ou reduzida. O maior problema da destilação a vapor é a pressão de vapor e a degradação que pode ocorrer quando a vazão é alta (AKDAĞ e ÖZTÜRK, 2019).

O princípio desta técnica é que a pressão de vapor combinada é igual à pressão ambiente em cerca de 100°C, de modo que os componentes voláteis com pontos de ebulição variando de 150 a 300°C podem ser evaporados a uma temperatura próxima à da água. Além disso, esta técnica também pode ser realizada sob pressão dependendo da dificuldade de extração dos óleos essenciais (KHAN e DWIVEDI, 2018).

Desta forma, além do interesse em verificar a composição do óleo essencial de folhas de um indivíduo de *Cryptocarya mandioccana* identificado como CB353, pretendeu-se neste trabalho avaliar a variação dos tempos de extração e estudar como isso pode influenciar na composição química dos óleos essenciais.

## 2. OBJETIVOS

O presente projeto de Iniciação Científica apresenta como objetivo geral e específicos:

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar a extração de óleo essencial de folhas de *Cryptocarya mandioccanna* adquiridas pelo IQ Unesp Araraquara-SP em tempos diferentes, identificando seus principais componentes por técnicas cromatográficas e por cálculos de índices de retenção e a discussão dos resultados obtidos.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Obter folhas secas de *Cryptocarya mandioccanna*;
- Extrair o óleo essencial por hidrodestilação;
- Analisar a amostra por Cromatografia Gasosa (CG)
- Realizar a identificação dos principais componentes por CG acoplado a Espectrometria de Massa
- Obter os índices de retenção (IR)
- Discussão dos resultados obtidos

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Aquisição do Material Vegetal

Foram obtidos cerca de 500 g de folhas secas e moídas de *Cryptocarya mandioccanna* (Lauraceae) identificadas como CB353, que foram gentilmente cedidas pelo NuBBE - Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química de Araraquara/SP. As amostras cedidas estavam sob responsabilidade do Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro. O espécime foi identificado pelo Dr. Pedro L.R. Moraes e sua exsicata foi depositada no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo (IBSP) com a identificação CAVALHEIRO CB 353 (MORAES et al., 2004).

### 3.2. Extração do óleo essencial

As extrações foram realizadas no Unisagrado utilizando o sistema de extração com condensador tipo Clevenger (CLEVINGER, 1928a e 1928b) resfriado com banho de gelo a aproxima-

madamente 5°C. Utilizou-se uma manta aquecedora (Fisatom Mod. 202) e foram estabelecidos os tempos de extração de ½ h, 1h e 2h para cada extração (triplicata em tempos diferentes).

Após cada uma das extrações, os óleos essenciais obtidos foram retirados com apoio de pipetas do tipo Pasteur e transferidas para frascos tipo Ependorfs de teflon®, que foram devidamente identificados e acondicionados em freezer (-18°C), aguardando o envio para as análises por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas e cálculos dos índices de retenção.

### 3.3. Análises por Cromatografia Gasosa (CG) e por Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises foram realizadas usando um modelo Shimadzu QP-5000 espectrômetro de massa com cromatógrafo a gás equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J & W Scientific) (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240°C, com gradiente de temperatura de 3°C por minuto. As temperaturas do injetor e interface foram mantidas a 240 e 230°C, respectivamente (ADAMS, 2012). O gás carreador foi o hélio a uma vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> (volume constante). Os espectros de massa foram obtidos a 70 eV no modo de íons totais (TIC). Amostras (1,0 µL) de concentrações conhecidas serão injetadas manualmente no modo split (20: 1).

As análises foram gentilmente fornecidas e realizadas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) Fazenda Santa Elisa, no Centro de Recursos Genéticos Vegetais em colaboração com a Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques. As análises dos resultados (cromatogramas e índices de retenção) foram obtidas na Universidade do Sagrado Coração de Bauru.

### 3.4. Identificação dos componentes dos óleos essenciais

As identificações dos componentes do óleo essencial foram feitas utilizando como referência os espectros de massas obtidos dos picos cromatográficos e comparados com dados teóricos da biblioteca de dados NIST 62 (MCLAFFERTY e STAUFFER, 1989; ADAMS, 2012; ADAMS, 1995).

Os índices de retenção foram determinados em relação aos tempos de retenção de uma série de padrões de n-alcenos (C10 a C30), medidos nas mesmas condições cromatográficas descritas acima e comparados com os valores publicados. A equação 2 (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963) foi utilizada para o cálculo do índice de retenção:

$$I = [(T'_s - T'_n) / (T'_{n+1} - T'_s) 100] + 100. C_n \quad (\text{Equação 2})$$

Onde :

$I$  – índice de retenção

$T'_s$  – tempo de retenção ajustado da substância analisada;

$T'_{Cn}$  – tempo de retenção ajustado do  $n$ -alcano que elui antes da substância;

$T'_{Cn+1}$  – tempo de retenção ajustado do  $n$ -alcano que elui após a substância;  $C_n$

– número de carbonos do  $n$ -alcano que elui antes da substância analisada.

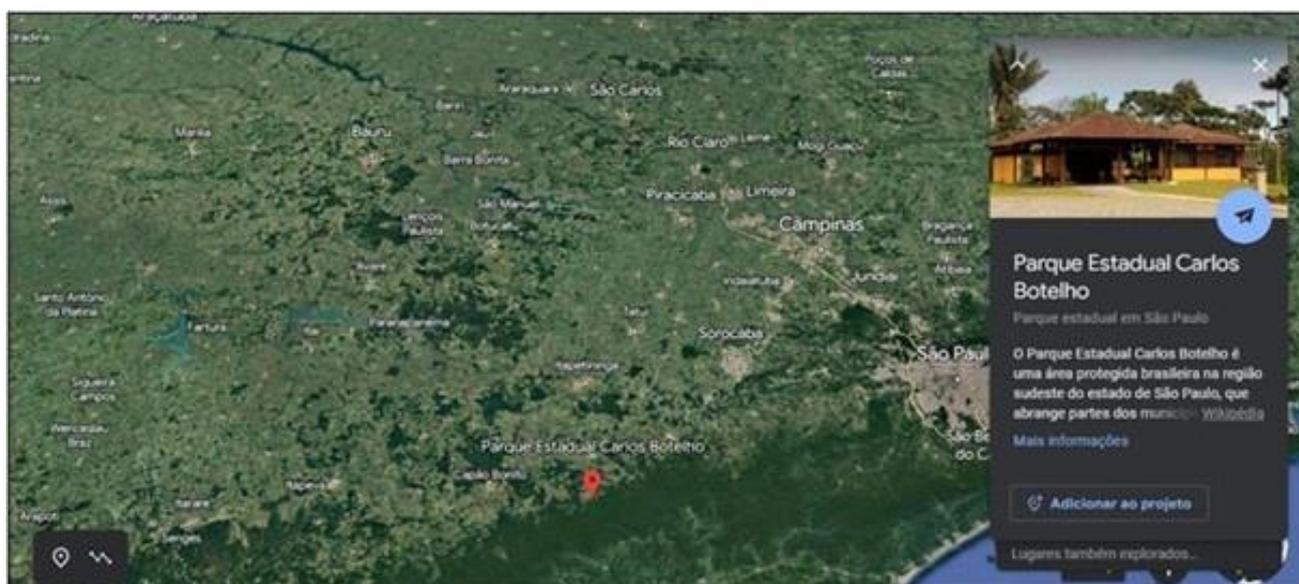
A obtenção dos dados foi gentilmente cedida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) Fazenda Santa Elisa, no Centro de Recursos Genéticos Vegetais em colaboração com a Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques. As análises dos resultados (cromatogramas e cálculos de índices) foram feitas no Centro Universitário do Sagrado Coração de Bauru.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Material Vegetal

As folhas de *Cryptocarya mandioccana* utilizadas no projeto foram fornecidas pelo Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro do Instituto de Química de Araraquara (NuBBE). Foi entregue uma amostra de 500 g de folhas já secas (estabilizadas) e moídas do indivíduo CB353, espécimen que ocorre no Parque Estadual Carlos Botelho – Núcleo Sete Barras (São Miguel Arcanjo/SP) (Figura 1).

Figura 1. Parque Estadual de Carlos Botelho - São Miguel Arcanjo/SP



Fonte: Google Earth

*Cryptocarya* (Lauraceae) é um gênero pantropical contendo cerca de 350 espécies distribuídas principalmente na Malásia e Austrália. Embora 23 espécies tenham sido descritas para a América do Sul, foram reconhecidos oito nomes de espécies validamente publicados, sendo sete delas endêmicas da Mata Atlântica do Brasil: *Cryptocarya aschersoniana* Mez, *Cryptocarya citrifomis* (Vell.) P.L.R. Moraes, *Cryptocarya mandioccana* Meisn., *Cryptocarya micrantha* Meisn., *Cryptocarya moschata* Nees & Mart., *Cryptocarya saligna* Mez e *Cryptocarya subcorymbosa* Mez. (TELASCREA et al., 2007).

*C. mandioccana* (Figura 2), uma das mais comuns e numerosas na Floresta Ombrófila Densa Atlântica do estado de São Paulo, é uma árvore de 20 e 30 m de altura, e constitui uma importante fonte alimentar para mamíferos, particularmente primatas como *Brachyteles arachnoides* spp. (mono-carvoeiro ou muriqui), que comem as folhas e frutos (TELASCREA et al., 2007).

**Figura 2.** Indivíduo de *Cryptocarya mandioccana* encontrada no Parque Estadual de Carlos Botelho - São Miguel Arcanjo/SP.



Fonte: José Alberto Cavalheiro (arquivo pessoal)

**Na Figura 3,** encontra-se o detalhe das folhas de *Cryptocarya mandioccana* obtidas do indivíduo CB353.

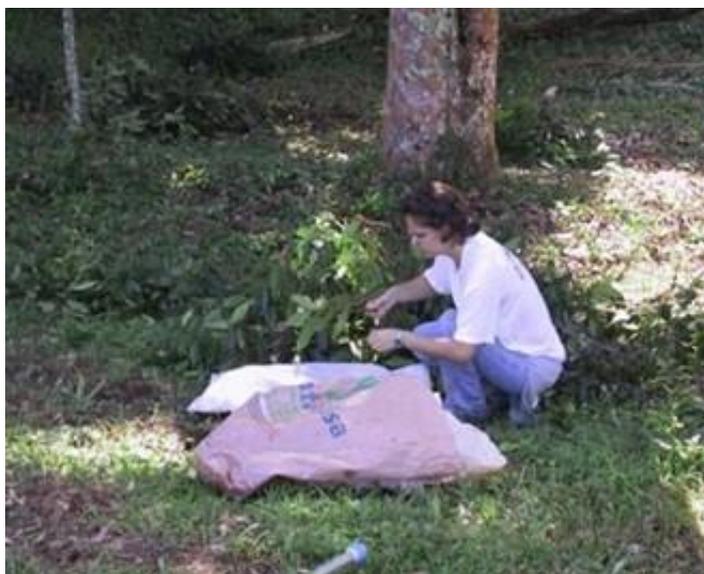
Figura 3. Folhas de *Cryptocarya mandioccana* do indivíduo CB353.



Fonte: José Alberto Cavalheiro (arquivo pessoal)

Na Figura 4, pode se observar uma coleta do material vegetal que deu origem à amostra estudada neste trabalho.

**Figura 4.** Coleta de folhas de *Cryptocarya mandioccanna* do indivíduo CB353.



Fonte: José Alberto Cavalheiro (arquivo pessoal)

## 4.2. Extração em sistema Clevenger

As folhas de *Cryptocarya mandioccanna* que passaram pelo processo de coleta, identificação, secagem e moagem, foram entregues como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Folhas de *C. mandioccanna* do indivíduo CB353 estabilizadas (secas) e moídas.



Fonte: O próprio autor.

A partir do material vegetal seco e moído pesou-se as massas descritas na Tabela 1 para o processo de extração:

Tabela 1. Massas obtidas de folhas de folhas de *C. mandioccanna*.

DATA	AÇÃO	CÓDIGO	MASSA (g)	PLANTA	Tempo Extração	Característica
15/dez	<i>Cryptocarya moschata</i> AM1	CM1	30,1058	EM PÓ SECA	1h	óleo amarelado
15/dez	<i>Cryptocarya moschata</i> AM2	CM2	30,5541	EM PÓ SECA	2h	óleo amarelado
15/dez	<i>Cryptocarya moschata</i> AM2	CM3	30,3265	EM PÓ SECA	30 min	óleo amarelado

Fonte: O próprio autor.

As extrações foram realizadas utilizando o sistema de extração com condensador tipo Clevenger resfriado com água a aproximadamente 5°C. Utilizou-se uma manta aquecedora e um recipiente com um bombeador e gelo para manter o banho a 5°C. Foram feitas extrações com o tempo de 30 min. (30,3265 g), 1 h (30,1058g) e 2 h (30,5541g). As massas de planta seca foram transferidas para os balões, como indicado na Figura 6.

Figura 6. Montagem do balão para um dos processos de extração

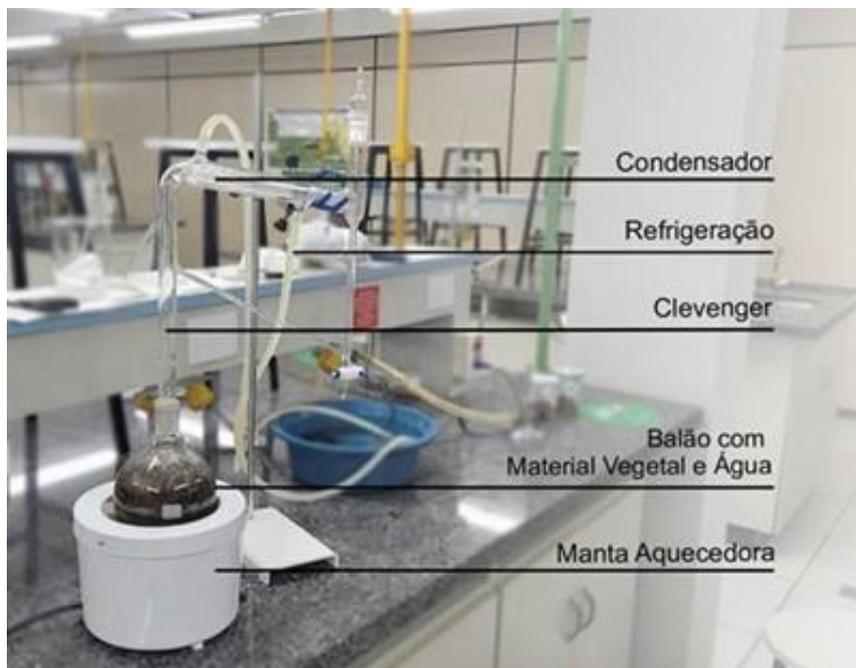


Fonte: O próprio autor.

### 4.3. Obtenção do óleo essencial de *Cryptocarya mandioccanna*

As extrações foram realizadas no Unisagrado usando o sistema de extração descrito na Figura 7. O sistema montado foi formado por balão de fundo redondo, condensador tipo Clevenger pelo sistema de refrigeração com gelo. O sistema Clevenger é o aparato mais indicado para extrações de óleos essenciais.

Figura 7. Sistema de extração.



Fonte: O próprio autor.

As amostras dos óleos essenciais (CM1, CM2, CM3) obtidos da condensação foram coletadas com muita dificuldade pois o rendimento foi muito baixo. As coletas de óleos essenciais foram feitas no ponto indicado na Figura 8. As amostras de óleos essenciais foram acondicionadas em frascos de Ependorf de teflon® devidamente identificados e acondicionados em freezer (-18°C), aguardando o envio das amostras para o Instituto Agrônomo de Campinas - IAC sob responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques.

Figura 8. Sistema de extração aparato tipo Clevenger



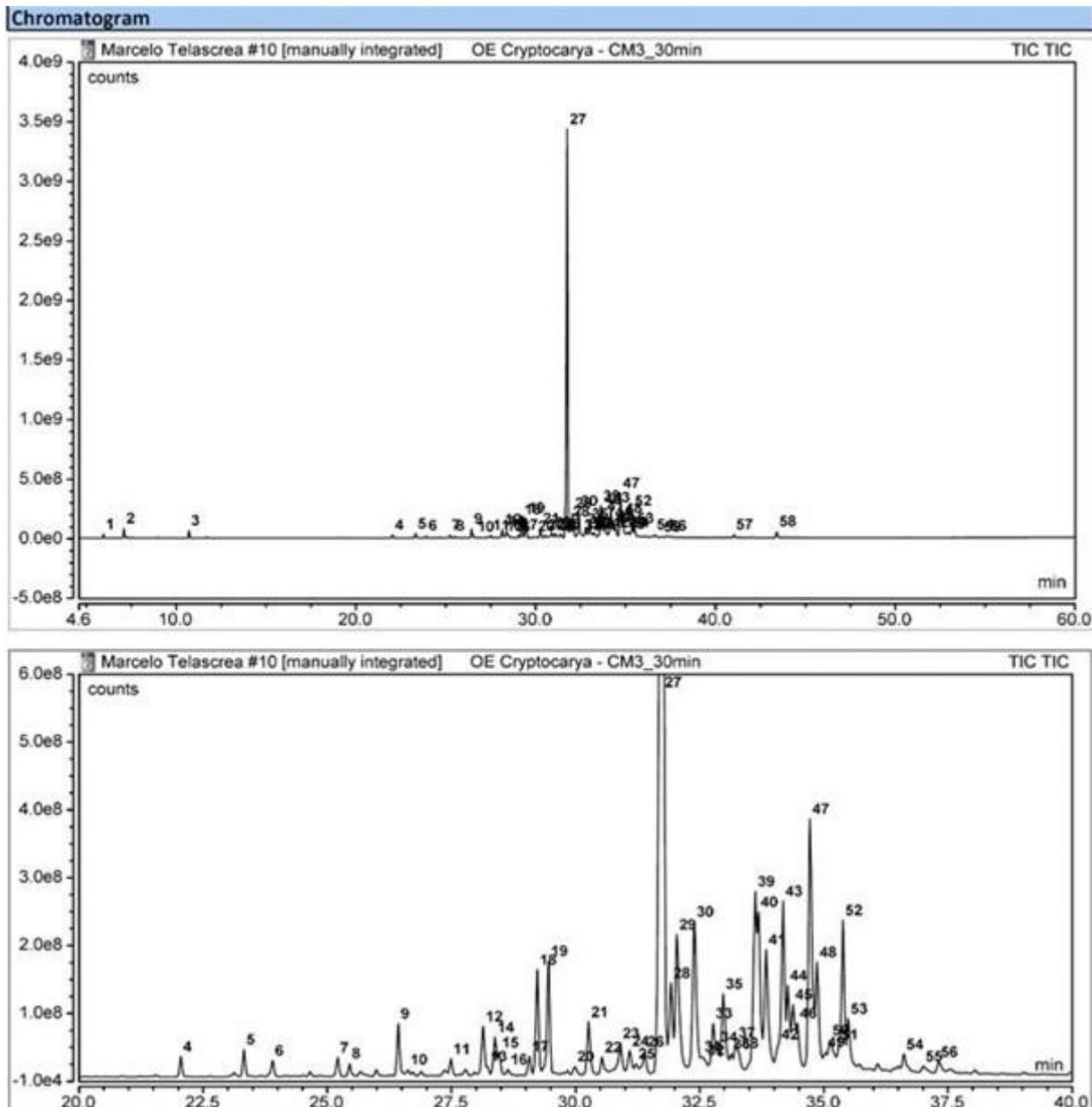
Fonte: Próprio Autor

#### 4.4. Análise dos Cromatogramas

A seguir serão apresentados os resultados das análises e identificações dos óleos essenciais obtidos nas amostras dos três tempos de extração, que foram enviados ao Instituto de Agronomia de Campinas (IAC), para as análises por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

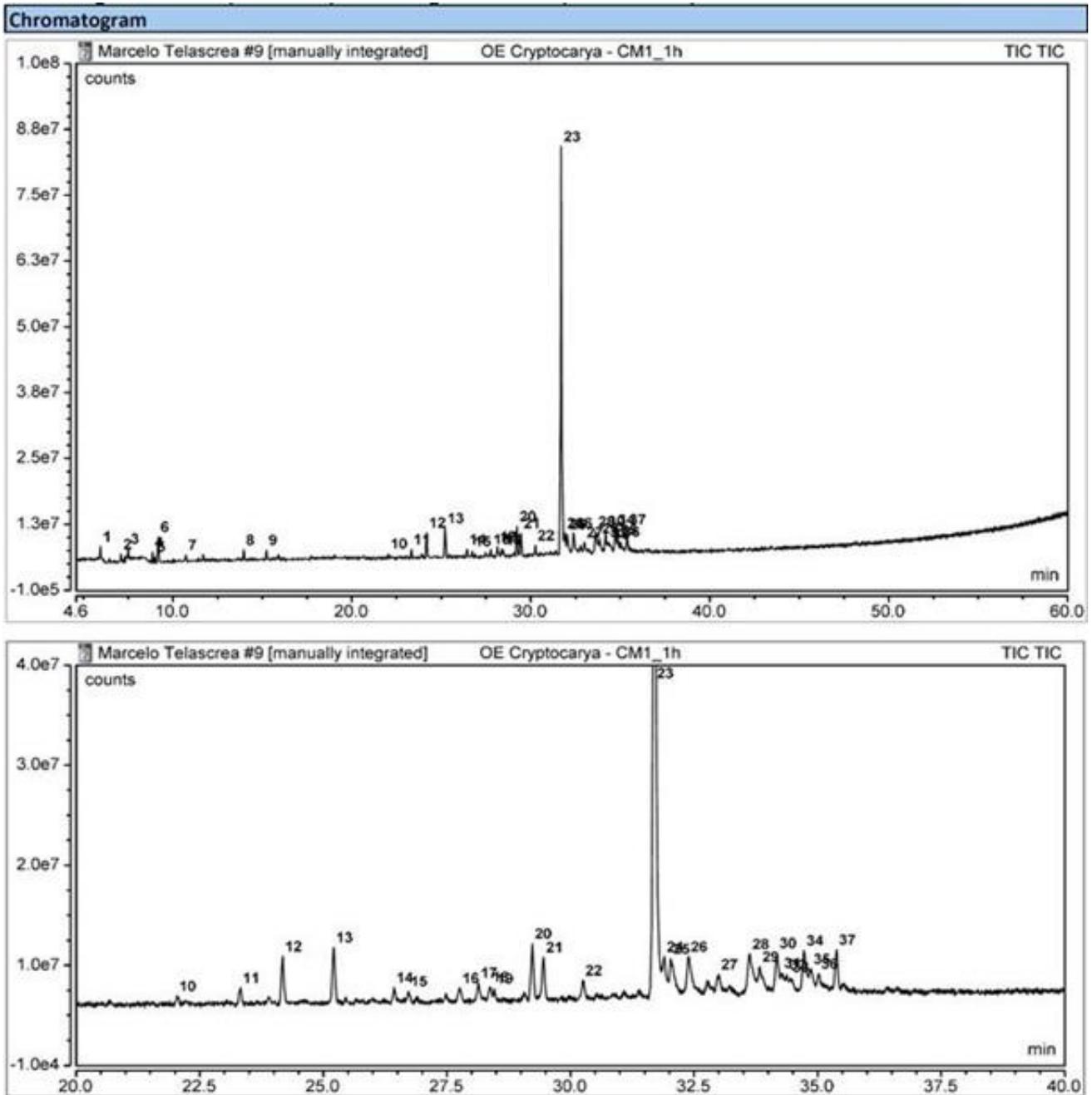
Nas Figuras 9, 10 e 11 são apresentados os cromatogramas obtidos para cada uma das amostras em seus respectivos tempos de extração.

Figura 9. Cromatograma e sua expansão (extração 30 minutos).



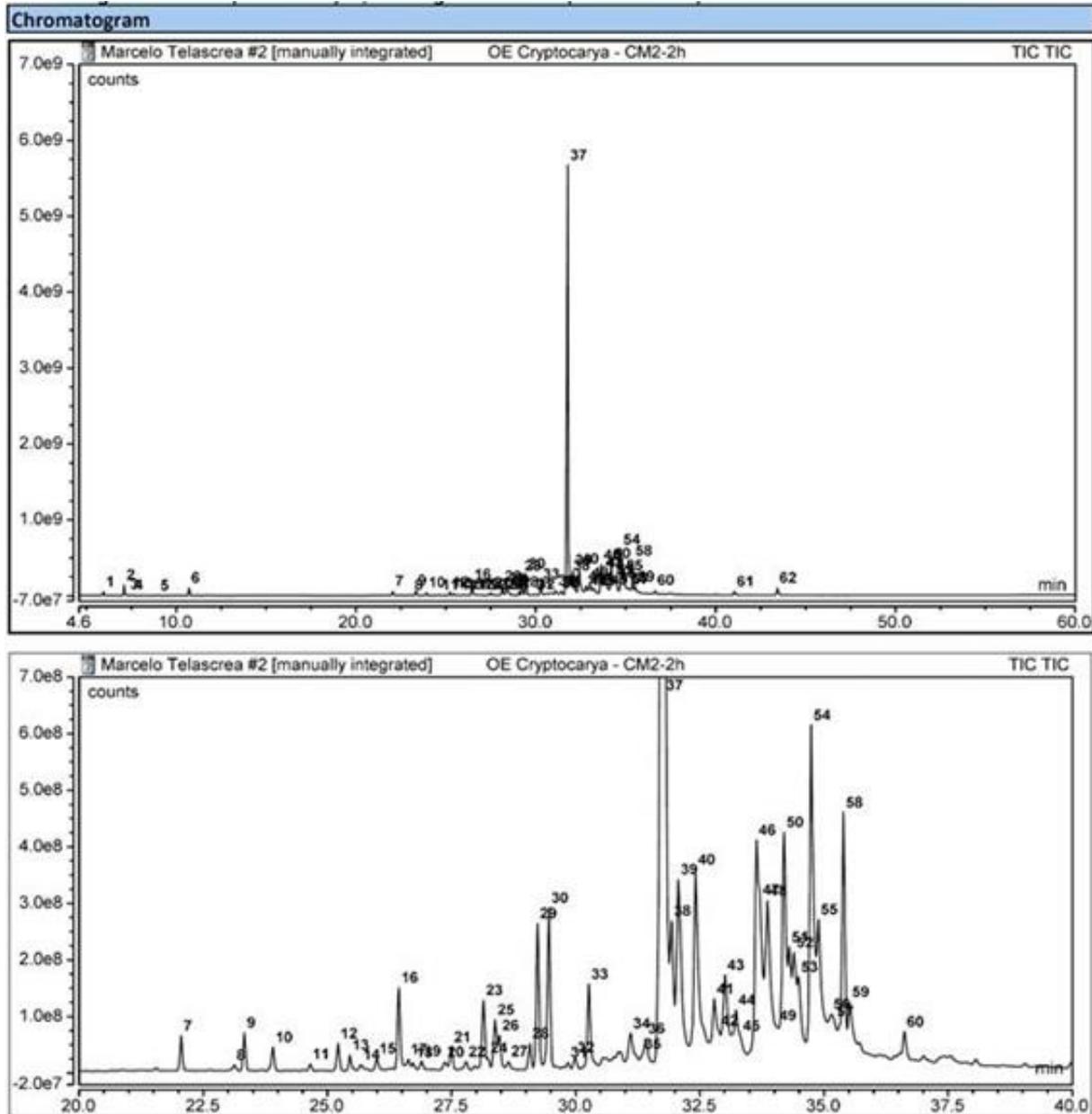
Fonte: IAC

Figura 10 Cromatograma e sua expansão (extração 60 minutos).



Fonte: IAC

Figura 11. Cromatograma e sua expansão (extração 120 minutos).



Fonte: IAC

Na Tabela 2 são apresentados os dados de substâncias identificadas e não identificadas em cada uma das extrações.

Tabela 2. Dados do total de substâncias identificadas e não identificadas em cada uma das extrações (em %).

	AMOSTRAS (% relativa)		
	Extração 30 min.	Extração 60 min.	Extração 120 min.
<b>Total Substâncias Identificadas</b>	<b>83,38</b>	<b>88,19</b>	<b>84,06</b>
<b>Total Substâncias não Identificadas</b>	<b>16,62</b>	<b>11,81</b>	<b>15,94</b>

Fonte: IAC

Na Tabela 3 são apresentados todos os dados de identificação das três amostras.

Tabela 3. Identificação dos principais componentes das amostras.

Substâncias	IR <sub>calc</sub>	IR <sub>lit</sub>	Amostras (% relativa)		
			Extração 30 min.	Extração 60 min.	Extração 120 min.
$\alpha$ -pinene	937	932	0,21	0,84	0,17
benzaldehyde	978	952	0,58	0,47	0,59
$\beta$ -pinene	985	974	tr	tr	0,07
myrcene	993	988	tr	0,88	tr
6-methyl-5-hepten-2-ona	994	981	tr	tr	0,04
o-cymene	1031	1022	tr	0,74	tr
limonene	1035	1024	tr	0,42	0,03
1,8-cineole	1040	1026	tr	1,99	tr
acetophenone	1081	1059	0,56	0,45	0,51
camphor	1161	1141	tr	0,55	tr
terpinen-4-ol	1192	1174	tr	0,79	tr
$\alpha$ -cubebene	1351	1347	0,29	0,36	0,33
benzylideneacetone	1376	1347	tr	tr	0,03
$\alpha$ -copaene	1381	1374	0,38	0,95	0,38
$\beta$ -elemene	1395	1389	0,26	tr	0,27
(E)-methyl cinnamate	1401	1376	tr	2,43	tr
(E)-caryophyllene	1426	1417	0,29	2,82	0,3
(E)- $\alpha$ -Ionone	1432	1428	0,21	tr	0,12
aromadendrene	1445	1439	tr	tr	0,11
geranyl acetone	1456	1453	0,79	0,64	0,8
$\alpha$ -humulene	1463	1454	tr	0,36	0,05
9-epi-(E)-caryophyllene	1467	1464	0,06	tr	0,08
trans-cadina-1(6),4-diene	1479	1475	tr	tr	0,06
$\gamma$ -muurolene	1482	1478	0,22	tr	0,21
(E)- $\beta$ -Ionone	1489	1487	tr	tr	0,07
NI	1498	-	0,88	0,81	0,85
trans-muurola-4(14),5-diene	1500	1493	0,03	tr	0,03
bicyclogermacrene	1504	1500	0,69	0,9	0,61
$\alpha$ -muurolene	1506	1500	0,33	0,57	0,32

NI	1511	-	0,07	tr	0,07
$\gamma$ -cadinene	1522	1513	0,29	tr	0,26
$\delta$ -cadinene	1526	1522	1,69	3,04	1,62
cis-calamenene	1532	1528	1,87	2,1	1,78
trans-cadina-1,4-diene	1541	1533	tr	tr	0,04
NI	1545	-	0,18	tr	0,13
$\alpha$ -calacorene	1552	1544	1	1,08	1,02
$\beta$ -calacorene	1574	1564	0,39	tr	0,52
NI	1579	-	0,15	tr	0,01
NI	1581	-	0,46	tr	0,37
spathulenol	1591	1577	44,66	46,26	45,8
caryophyllene oxide	1595	1582	1,77	2,93	1,99
NI	1598	-	3,22	3,36	3,68
globulol	1607	1590	3,44	2,54	3,98
viridiflorol	1617	1592	0,98	tr	1,23
rosifoliol	1620	-	0,98	tr	0,01
NI	1623	-	1,70	0,71	1,57
1,10-di-epi-cubenol	1627	1618	0,29	tr	tr
$\alpha$ -corocalene	1629	1622	0,50	tr	0,81
NI	1632	-	0,28	tr	0,27
1-epi-cubenol	1640	1627	3,46	4,09	2,76
NI	1642	-	tr	tr	2,09
NI	1646	-	2,74	2,66	3,24
NI	1651	-	0,81	tr	0,22
cubenol	1655	1645	3,19	2,59	3,30
NI	1658	-	1,40	1,21	1,30
$\alpha$ -muurolol	1661	1646	1,35	0,86	1,51
NI	1663	-	0,81	tr	1,06
$\alpha$ -cadinol	1670	1652	5,09	2,86	4,86
intermedeol	1674	1665	2,05	1,64	2,44
bulnesol	1678	1670	0,28	tr	tr
NI	1681	-	0,83	tr	0,61
NI	1683	-	tr	tr	0,30
14-hydroxy-(Z)-caryophyllene	1685	1666	0,27	tr	tr
cadalene	1687	1675	2,52	2,04	3,10
mustakone	1691	1676	0,90	tr	0,40
10-nor-calamenen-10-one	1721	1702	0,30	tr	0,30

5-hydroxy-cis-calamenene	1732	1713	0,17	tr	tr
hexahydrofarnesyl acetone	1848	1844	0,35	tr	0,37
(5E,9E)-farnesyl acetone	1920	1913	0,69	tr	0,78

NI = não identificado; tr = traços; IR<sub>calc</sub> = índice de retenção calculado; IR<sub>lit</sub> = índice de retenção da literatura (ADAMS, 2012).

Fonte: IAC

## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 1.1. Cromatogramas

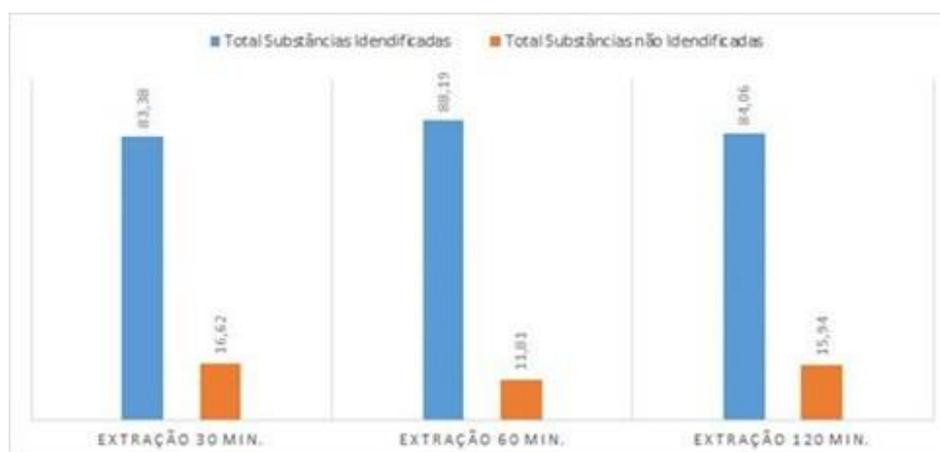
Ao analisar os cromatogramas obtidos para as três amostras (Figuras 8, 9 e 10), pode-se verificar que, devido ao número de substâncias que foram detectadas em cada uma das amostras, a identificação dos picos pode variar. O pico majoritário ou de maior intensidade nas amostras de 30, 60 e 120 minutos, foi identificado como picos 27, 23 e 37, respectivamente nas amostras. No entanto, isso é natural em analitos com um número grande de picos cromatográficos eluidose em quantidades variadas. Lembrando que esses dados são obtidos automaticamente no sistema por CG-EM.

Para resolver isso, levou-se em conta os tempos dos picos eluidos, que apesar das numerações diferentes, mostram tempos de retenção muito próximos, indicando serem as mesmas substâncias. Observou-se isso no pico acima citado, onde o mesmo aparece em 31,751 minutos (amostra 30 minutos), 31,697 minutos (amostra 60 minutos) e 31,777 minutos (amostra 120 minutos).

### 1.2. Rendimento

No Gráfico 1, pode-se verificar a relação em porcentagem relativa entre as extrações e o total de substâncias identificadas e não identificadas.

Gráfico 1. Porcentagens relativas de identificação de substâncias por extração.



Fonte: O próprio autor.

Pelos dados, pode-se verificar que o número de substâncias identificadas foi um pouco maior na amostra obtida na extração de 60 minutos (88,19%), quando comparada com as amostras de 30 (83,38%) e 120 minutos (84,06%) que estão mais próximas.

Entre os métodos disponíveis para a extração de óleos essenciais, como a destilação a vapor, a extração por solventes e a hidrodestilação, o método mais comum e recomendado é a hidrodestilação, devido ao seu baixo custo e praticidade. Na execução deste método, aparelhos do tipo Clevenger são utilizados, acoplados a balões nos quais o material vegetal é inserido, juntamente com uma quantidade de água destilada. Após a fervura, o vapor contendo os compostos voláteis é arrastado até o condensador, a partir do qual o óleo essencial e o vapor condensam e se separam devido à diferença de densidade. É importante notar que, neste método, o teor e a composição química do óleo essencial podem variar dependendo do tempo (MATTANA et al., 2015).

Nas amostras analisadas, foram identificados cerca de 54 picos eluídos na amostra de 30 minutos, 37 picos eluídos na amostra de 60 minutos e 54 picos eluídos na amostra de 120 minutos. Essas variações podem estar associadas aos fatores acima citados.

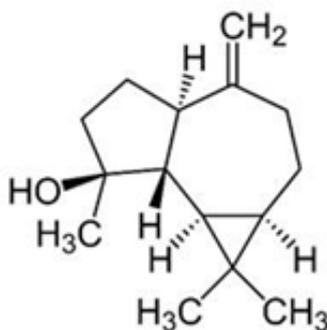
A partir deste estudo, como perspectiva futura para outros trabalhos, sugere-se avaliar o processo de extração por hidrodestilação, através de extrações em tempos fixos e em triplicata ou quintuplicata. Desta forma, poderão ser obtidos desvios padrões que permitirão uma maior compreensão do sistema de extração Clevenger.

### 1.3. Identificação

Foram indicadas cerca de 69 substâncias nos cromatogramas das três amostras (Tabela 2). Dessas, apenas 15 substâncias não foram identificadas (indicadas como NI). Algumas substâncias não tiveram suas % relativas indicadas por apresentarem apenas traços (tr).

Na Tabela 3, pode-se observar as substâncias majoritárias identificadas, dando destaque ao spathulenol (Figura 12). Esse terpeno da classe dos sesquiterpenos (15 carbonos) foi a substância obtida com a maior % relativa: 44,60% na amostra de 30 minutos, 46,26% na amostra de 60 minutos e 45,80% na amostra de 120 minutos.

Figura 12. Estrutura do spathulenol.



Fonte: O próprio autor.

**Tabela 3.** Substâncias majoritárias identificadas nas amostras estudadas.

Substância	Amostras (% relativa)			Média	Desvio Padrão
	Extração 30 min.	Extração 60 min	Extração 120 min.		
$\delta$ -cadinene	1,69	3,04	1,62	2,12	0,800
cis-calamenene	1,87	2,10	1,78	1,92	0,165
$\alpha$ -calacorene	1,00	1,08	1,02	1,03	0,042
spathulenol	44,66	46,26	45,80	45,57	0,824
caryophyllene oxide	1,77	2,93	1,99	2,23	0,616
globulol	3,44	2,54	3,98	3,32	0,727
1-epi-cubenol	3,46	4,09	2,76	3,44	0,665
cubenol	3,19	2,59	3,30	3,03	0,382
$\alpha$ -muurolol	1,35	0,86	1,51	1,24	0,339
$\alpha$ -cadinol	5,09	2,86	4,86	4,27	1,226
intermedeol	2,05	1,64	2,44	2,04	0,400
cadalene	2,52	2,04	3,10	2,55	0,531

Fonte: O próprio autor.

#### 1.4. Análise dos desvios

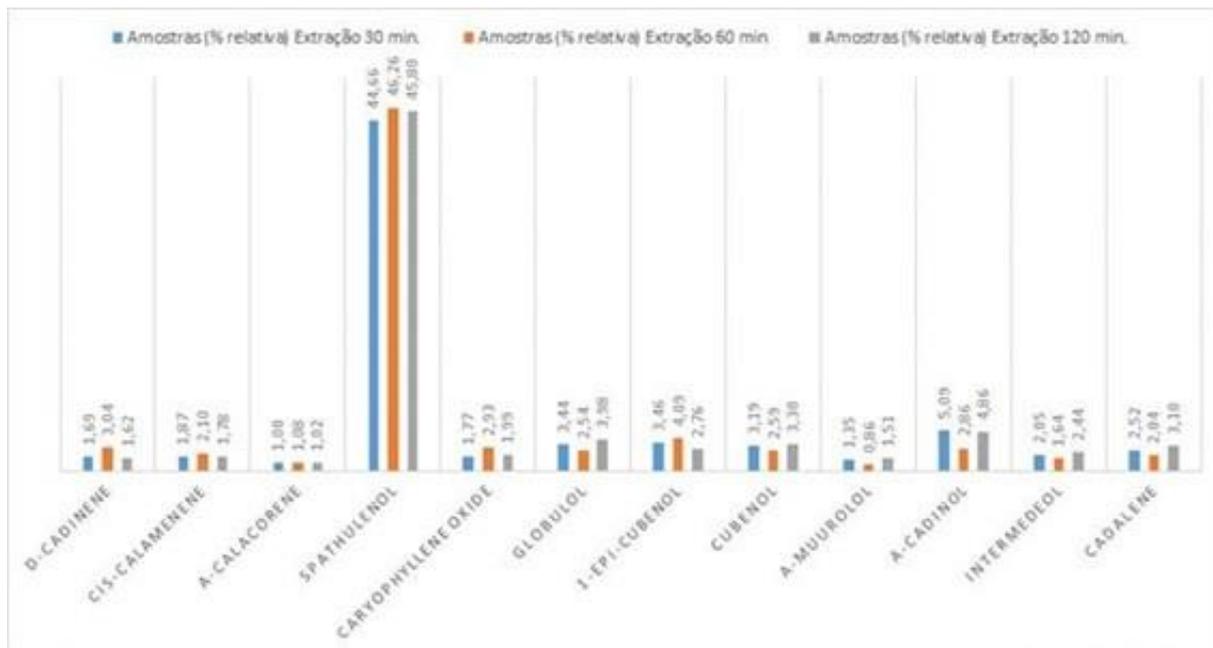
Com base nos dados da Tabela 3, pode-se verificar que o desvio padrão é uma medida estatística importante que indica a dispersão ou variabilidade dos dados em relação à média. Pode-se notar que algumas substâncias têm desvio padrão baixo (por exemplo,  $\alpha$ -calacorene (com um desvio padrão de 0,042), indicando que os resultados estão muito próximos da média. Isso sugere que a extração dessas substâncias é consistente entre as diferentes amostras e tem baixa variabilidade.

Para identificar a presença de valores atípicos (outliers) nos dados, pode-se usar o desvio padrão e a média como referência. Valores que estão muito distantes da média em relação ao desvio padrão podem ser considerados outliers. Com base nesse critério, pode-se identificar os seguintes valores que podem ser considerados outliers: para a substância  $\delta$ -cadinene, o valor de 3,04 na extração de 60 minutos está mais de 2 desvios padrão acima da média. Para a substância spathulenol, todos os valores nas diferentes extrações estão próximos da média e não parecem outliers significativos. Para a substância  $\alpha$ -cadinol, o valor de 5,09 na extração de 30 minutos está mais de 2 desvios padrão acima da média.

Não há uma correlação clara e consistente entre a média e o desvio padrão para cada substância. Em algumas substâncias, médias moderadas estão associadas a desvios padrão baixos, enquanto em outras, médias moderadas estão associadas a desvios padrão moderados ou altos. Essas diferenças podem ser devidas à natureza das substâncias, aos processos de extração ou a outros fatores experimentais.

Ao analisar os dados fornecidos e comparar os desvios padrão em diferentes tempos de extração para todas as substâncias, algumas tendências gerais podem ser observadas, embora seja importante destacar que essas tendências podem variar de substância para substância.

Gráfico 2. Porcentagens relativas das principais substâncias identificadas.



Fonte: O próprio autor.

A extração em 30 minutos permitiu a obtenção de duas substâncias em maior quantidade: cubenol e  $\alpha$ -cadinol. Já a extração em 60 minutos foi a mais efetiva para a obtenção da maioria das substâncias, incluindo a majoritária:  $\delta$ -cadinene, cis-calamenene,  $\alpha$ -calacorene, spathulenol, caryophyllene oxide e 1-epi-cubenol. Com a extração em 120 minutos pode-se obter quatro substâncias: globulol, cubenol, intermedeol e cadalene.

O tempo de extração varia de espécie vegetal para espécie vegetal. No caso, não houve mudanças significativas com o aumento do tempo de extração. O processo de extração é a parte mais custosa do projeto, pois usa eletricidade e calor. Quanto menor o tempo, mais econômico o processo. A literatura em geral, relata extrações de 1 hora com o sistema Clevenger, e isso ficou claro neste trabalho. Portanto, com extrações de 30 minutos, se tem um bom perfil de óleo para identificação.

## 2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram realizadas 3 extrações de folhas secas e moídas de *Cryptocarya mandioccana*. Pode-se realizar extrações por hidrodestilação com aparato tipo Clevenger durante 30, 60 e 120 minutos.

Pelos dados, pode-se verificar que o número de substâncias identificadas foi um pouco maior na amostra obtida na extração de 60 minutos (88,19%), quando comparada com as amostras de 30 (83,38%) e 120 minutos (84,06%) que estão mais próximas.

Nas amostras analisadas, foram identificados cerca de 54 picos eluídos na amostra de 30 minutos, 37 picos eluídos na amostra de 60 minutos e 54 picos eluídos na amostra de 120 minutos.

O spathulenol, um terpeno, foi a substância obtida com a maior rendimento: 44,60% na amostra de 30 minutos, 46,26% na amostra de 60 minutos e 45,80% na amostra de 120 minutos.

Com base nos dados da Tabela 3, pode-se verificar que o desvio padrão é uma medida estatística importante que indica a dispersão ou variabilidade dos dados em relação à média. Pode-se notar que algumas substâncias têm desvio padrão baixo (por exemplo,  $\alpha$ -calacorene (com um desvio padrão de 0,042), indicando que os resultados estão muito próximos da média. Isso sugere que a extração dessas substâncias é consistente entre as diferentes amostras e tem baixa variabilidade.

O tempo de extração varia de espécie vegetal para espécie vegetal. No caso, não houve mudanças significativas com o aumento do tempo de extração. Portanto, com extratos de 30 minutos, se tem um bom perfil de óleo para identificação por CG-EM e índices de retenção.

### 3. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic press, 2012.
- AZMIR, Jannatul et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- AKDAĞ, Ahmet; ÖZTÜRK, Ergin. Distillation methods of essential oils. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, v. 45, n. 1, p. 22-31, 2019.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 446-475, 2008.
- BANDEIRA, Karin F.; CAVALHEIRO, Alberto José. An LC-DAD Fingerprinting Method for Alkaloids, Flavonoids and Styrylpyrones from *Cryptocarya mandioccana*. *Chromatographia*, v. 70, n. 1455, 2009.
- BARBOSA, Tiago Domingos Mouzinho; BAITELLO, João Batista; MORAES, Pedro Luís Rodrigues de. A família Lauraceae Juss. no município de Santa Teresa, Espírito Santo. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, Santa Teresa-ES*, ed. 30, p. 5-178, 2012.
- CAVALHEIRO, A. J.; YOSHIDA, M. 6-[omega-arylalkenyl]-5,6-dihydro-alpha-pyrones from *Cryptocarya moschata* (Lauraceae). *Phytochemistry*, v. 53, ed. 7, 2000.
- CSERHÁTI, Tibor. *Chromatography of aroma compounds and fragrances*. Springer Science & Business Media, 2010.
- DRINIĆ, Zorica et al. Microwave-assisted extraction of *O. vulgare* L. spp. *hirtum* essential oil: Comparison with conventional hydro-distillation. *Food and Bioproducts Processing*, v. 120, p. 158-165, 2020.
- FORNARI, Tiziana et al. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, v. 1250, p. 34-48, 2012.
- HARO-GONZÁLEZ, José Nabor et al. Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, v. 26, n. 21, p. 6387, 2021.
- KHAN, Ms Farhin; DWIVEDI, Anjani K. A review on techniques available for the extraction of essential oils from various plants. *International Research Journal of Engineering and Technology*, v. 5, n. 5, p. 5-8, 2018.
- LIU, Yun-Lai et al. Two new isoquinoline alkaloids from *Cryptocarya wrayi* and their biological activities. *Fitoterapia, Elsevier*, v. 156, 2022.
- MARQUES, Carlos Alexandre; AZEVEDO, Aristeia Alves. Anatomia foliar comparada de quatro espécies da família Lauraceae. *Farmanguinhos - Revista Fitos*, v. 3, ed. 13, 2019.
- MATTANA, Raquel de Souza et al. Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.]. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, p. 150-156, 2015.

- MCLAFFERTY, Fred W.; STAUFFER, Douglas B. The Wiley/NBS registry of mass spectral data. New York: Wiley, 1989.
- MILOJEVIĆ, Svetomir Ž.; RADOSAVLJEVIĆ, Dragana B.; PAVIĆ EVIĆ, Vladimir P.; PEJANOVIĆ, Srđan; VELJKOVIĆ, Vlada B. Modeling the kinetics of essential oil hydrodistillation from plant materials. *Scientific Paper*, p. 1–17, 11 jan. 2013.
- MORAES, Pedro L.R. de; MONTEIRO, Reinaldo; VENCOSKY, Roland. Estrutura genética intrapopulacional em *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 27, ed. 3, p. 475–487, 2004.
- MORAES, Pedro L.R. de. Taxonomy of *Cryptocarya* species of Brazil. *ABC Taxa*, Campinas–SP, v. 3, 2007.
- MEJRI, Jamel et al. Emerging extraction processes of essential oils: A review. *Asian Journal of Green Chemistry*, v. 2, n. 3, p. 246–267, 2018.
- OKETSU, M. ; GONÇ ALVES, S. L. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. *Infoteca-e Embrapa*, p. 24, 1991.
- OUZZAR, Mohamed Laid et al. Comparison of the performances of hydrodistillation and supercritical CO<sub>2</sub> extraction processes for essential oil extraction from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Chemical Engineering Transactions*, v. 43, p. 1129–1134, 2015.
- RIBEIRO, Henrique Lauand. Lauraceae da Bahia. Orientador: Dr. Pedro Luís Rodrigues de Moraes. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) – Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2019.
- RUBIOLO, P.; SGORBINI, B. ; LIBERTO, E. ; CORDERO, C. ; BICCHI, C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, n. 5, 19 ago. 2010.
- SOUZA JÚNIOR, I.T.; SALES, N. L.P.; MARTINS, E.R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Revista Biotemas*. 2009, vol. 22, n. 3, p. 77–83. ISSN 0103 -1643.
- SHARIF, K. M. et al. Experimental design of supercritical fluid extraction-A review. *Journal of Food Engineering*, v. 124, p. 105–116, 2014.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Revista NEXUS Ciência e Tecnologia*, 2002, v. 12, n. 1, p. 35–40.
- SILVESTRE, W.P.; LIVINALI, N. F.; BALDASSO, C. ; TESSARO, I.C. Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 93, p. 42–52, 2019.
- TELASCREA, Marcelo; ARAÚJO, Carla C. de; MARQUES, Márcia O.M.; FACANALI, Roselaine; MORAES, Pedro L.R. de; CAVALHEIRO, Alberto J. Essential oil from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 35, p. 222–232, 2007.

TUREK, Claudia; STINTZING, Florian C. Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

URBANETZ, Catia; TAMASHIRO, Jorge Yoshio; KINOSHITA, Luiza Sumiko. Chave de identificação de espécies lenhosas de um trecho de Floresta Ombrófila Densa Atlântica, no Sudeste do Brasil, baseada em caracteres vegetativos.

*Biota Neotropica*, Campinas-SP, v. 10, ed. 2, 2010.

VAN DEN DOOL, H<sup>†</sup> ; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. 1963.

VÖLTZ, Rafael Rosenstock; BLUM, Christopher Thomas. Chave dendrológica e caracterização da morfologia vegetativa da família Lauraceae em um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. *Rodriguésia*, v. 71, 2020.

WERFF, Henk van der. A Key to the Genera of Lauraceae in the New World. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, Missouri Botanical Garden Press, ano 1991, v. 78, ed. 2, p. 377-387, 1991.

ZONARO, Victor Alexandre. Análise de Estirilpironas de *Cryptocarya* por HPLC-DAD-MS. *Dissertação (Mestrado em Química) - O Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista*, 2016.

ZOCCOLOTTI, Jacqueline de Oliveira. Eficácia dos extratos de diferentes espécies de *Cryptocarya* (Lauraceae) sobre biofilme de *Candida albicans* e biocompatibilidade: estudos in vitro e in vivo. Orientador: Prof<sup>†</sup> Dr<sup>†</sup> Janaina Habib Jorge. 2021. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral, Área de Prótese) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara-SP, 2021.

**ENVIRONMENTAL  
SCIENCE & TECHNOLOGY  
INNOVATION** 

**Volume 3 N° 1 | 2024**

