



ULISSES CARLO M. S. B. COSTA

10/0125905

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**CARACTERIZAÇÃO E USO DE MÉTODOS DE SEPARAÇÃO PARA
AUTENTICIDADE DE ÓLEOS DE COPAÍBA**

Brasília

2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

ULISSES CARLO M. S. B. COSTA

**CARACTERIZAÇÃO E USO DE MÉTODOS DE SEPARAÇÃO PARA
AUTENTICIDADE DE ÓLEOS DE COPAÍBA**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica sob a supervisão de Alessandro César de Oliveira Moreira e orientação da professora Simone Monteiro e Silva.

Brasília

2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e meu irmão. Sempre me incentivaram, apoiaram e acreditaram em mim. São as pessoas mais importantes da minha vida e não poderia começar agradecendo a outra pessoa.

À minha fantástica namorada Ísis Motta, que mesmo com todas as dificuldades nunca deixou de estar ao meu lado. É minha maior companheira e não me deixa desanimar por nada.

Ao meu supervisor e amigo Alessandro, que abriu as portas de seu laboratório, nunca poupou esforços e sempre esteve disponível, independente do dia, para me dar conselhos e guiar durante a realização dessa monografia.

À minha orientadora, professora Simone, que sempre foi muito paciente me dando toda a ajuda necessária.

Ao professor Ângelo, por ter tornado possível minha primeira experiência em pesquisa na área de química.

À professora Andressa, por sempre ter me ajudado com todas as questões administrativas dentro do Instituto de química de Brasília. Aos professores Wender, Fábio, Aline, Fernando de Magalhães e Ana Cristi, por serem ótimos profissionais e serem um exemplo para mim.

À CAPES, pelo crescimento pessoal e acadêmico como bolsista do programa Ciências Sem Fronteiras – Hungria.

Ao Serviço Florestal Brasileiro – SFB e toda a equipe do Laboratório de Produtos Florestais, por me receberem de braços abertos e sempre terem sido muito solícitos em tudo que eu precisei para este trabalho.

Por fim, aos meus amigos, que mesmo na minha ausência durante o intercâmbio e na realização desta monografia, sempre foram compreensivos e nunca deixaram nada abalar a amizade que temos.

Grato.

“Às vezes é preciso sair muito do caminho para pegar um atalho correto”—Edward Albee

“Fear has its uses but cowardice has none.” — Mahatma Ghandi

RESUMO

O óleo de copaíba é uma matéria-prima utilizada pelos mais diversos setores da indústria, que vão desde tintas e vernizes a cosméticos e fármacos. No Brasil, existem mais de vinte espécies de copaibeiras e essa variabilidade dificulta a criação de regulamentações afim de proteção deste insumo. Além disso, aspectos como clima e época do ano alteram a composição do óleo. Os conhecimentos das propriedades físico-químicas do óleo de copaíba são de fundamental importância para a regulamentação deste insumo. Fatores como índice de refração e índice de acidez são indicadores preliminares de adulterações grosseiras. Neste trabalho propomos a determinação das propriedades físico-químicas do óleo de copaíba e a utilização de técnicas de separação de grupos de compostos para os mais diversos produtos, como por exemplo tintas e vernizes. Foram testadas as seguintes técnicas de separação: Cromatografia em coluna, destilação por arraste de vapor e separação líquido. Algumas técnicas de separação se mostraram mais efetivas e seletivas que outras, além de se levar em consideração os gastos atribuídos a cada técnica. A técnica mais seletiva e eficiente foi a cromatografia em coluna.

Palavras-chave: Óleo de Copaíba, Técnicas de separação, Adulteração.

ABSTRACT

The copaiba oil is a feedstock used by the most diverse sectors of industry, ranging from paints and varnishes to cosmetics and pharmaceuticals. In Brazil there is more than twenty species of copaibeiras and this variability makes difficult the creation of regulations to protect this matter.

The knowledge of the physico-chemical properties of copaiba oil have fundamental importance for the regulation of this input. Factors such as refractive index and acidity index are preliminary indicators of gross adulteration. At this work, we propose the determination of physicochemical properties of copaiba oils and the application of separation techniques for groups of compounds used for the most diverse products, such as paints and varnishes. The following separation techniques were tested: Column chromatography, steam drag distillation and liquid separation. Some techniques of separation were more effective and selective than others, besides taking into account the expenses assigned to each technique. The most selective and efficient technique was column chromatography.

Keywords: Copaiba oil, Separation technique, Adulterations.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVO GERAL.....	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1 Parâmetros físico-químicos.....	13
3.2 Técnicas de separação.....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1 Amostra dos óleos de Copaíba.....	25
4.2 Índice de Refração.....	26
4.3 Densidade.....	27
4.4 Viscosidade	28
4.5 Índice de Acidez.....	29
4.6 Destilação com arraste de vapor.....	29
4.7 Cromatografia em Coluna.....	30
4.8 Cromatografia Gasosa.....	31
4.9 Extração Líquido-Líquido.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
5.1 Resultados de Densidade.....	34
5.2 Resultados de Índice de refração.....	36
5.3 Resultados de Viscosidade	38
5.4 Resultados de Índice de acidez.....	40
5.5 Resultados de Destilação com arraste de vapor.....	43
5.6 Resultados de Cromatografia em coluna.....	45
5.7 Resultados de Cromatografia gasosa.....	48
5.8 Resultados da Extração líquido-líquido.....	50
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	52
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
8. APÊNDICE.....	57

1. INTRODUÇÃO

O nome copaíba tem origem no tupi-guarani, “cupa-yba”: A árvore de estoque, ou que tem jazida, em uma referência nítida ao óleo armazenado em seu interior [1]. Popularmente conhecidas como copaibeiras ou pau d’óleo, as espécies de copaíba são largamente distribuídas pelo leste da África e pelas Américas, desde o norte da Argentina até o México [2]. No Brasil, estão distribuídas principalmente nas regiões amazônica e centro-oeste, sendo o óleo de copaíba extraído de várias espécies de *Copaifera* (*Leguminosae-Caesalpinioideae*).

A Figura 1 mostra a distribuição da espécie *Copaifera Langsdorffii* pela América e África [2].

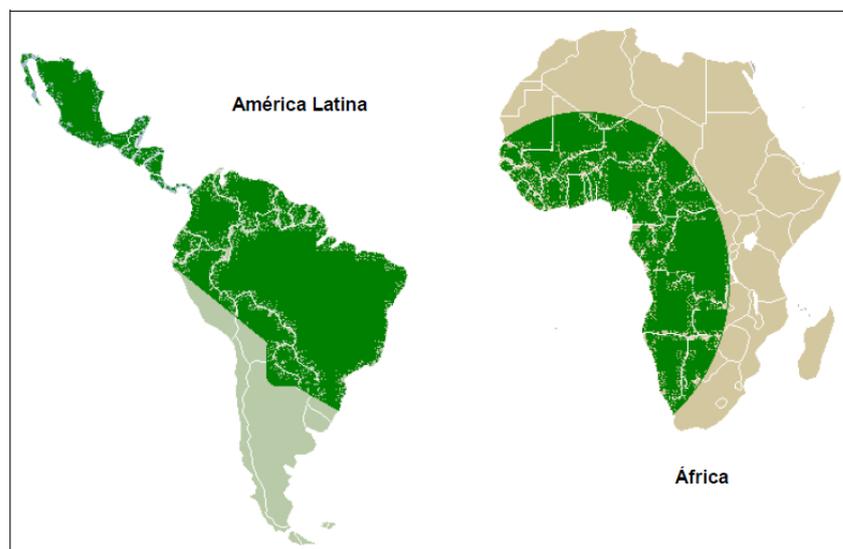


Figura 1: Distribuição das espécies *C. Langsdorffii* pela América e África [2]

No território brasileiro ocorrem mais de vinte espécies e entre as mais abundantes destacam-se; *C. officinalis* L., *C. guianensis* Desf., *C. reticulata* Ducke, *C. Multijuga* Hayne, *C. confertiflora* Bth., *C. langsdorffii* Desf., *C. Coriacea* Mart., *C. cearensis* Huber ex Ducke [2] [3] [4] [5].

O óleo-resina do gênero *Copaifera* ou simplesmente óleo de copaíba, é largamente utilizado para as mais diversas finalidades industriais, que vão desde a utilização em tintas e vernizes, indústrias de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. No Brasil, este óleo é amplamente utilizado na medicina popular, desde a época da chegada dos portugueses, para a cicatrização de feridas, como anti-inflamatório, no cordão umbilical de recém-nascidos, no tratamento de infecções de garganta, entre outros [2] [3].

O uso deste recurso natural renovável vem aumentando em razão de um maior apelo mundial, inclusive no Brasil, pelo uso de fitoterápicos e outros produtos naturais^[1], o que tem aumentado a pressão na exploração, todavia, como a produção do óleo é variável e em vista de uma maior demanda, as adulterações como a adição de outros líquidos miscíveis acabam por ocorrer, o que tem levado a diversas pesquisas no intuito de desenvolver métodos que possam detectar tais fraudes [6] [7] [8].

A variabilidade natural inerente a esta matéria-prima e a demanda crescente do mercado por estes tipos de medicamentos fitoterápicos, podem comprometer a autenticidade e a efetividade dos produtos contendo o óleo de copaíba. Além disso, não há como garantir de maneira direta a identidade botânica da copaibeira, já que o óleo vem sendo obtido, na maioria das vezes, via extrativismo sustentável e, simultaneamente, de várias espécies de *Copaifera*. A falta de parâmetros efetivos para caracterizar e, conseqüentemente, realizar o controle de qualidade de óleo de copaíba, é um dos principais entraves para o registro e exportação de produtos fitoterápicos contendo este insumo [9].

A composição química da óleo-resina da *copaifera* spp. foi determinada em vários estudos e é definida como a mistura de sesquiterpenos (predominantemente óleos voláteis) e diterpenos, como ácido copálico, que é considerado o biomarcador da óleo-resina de copaíba [4].

Composição do óleo-resina de copaíba:

O óleo de copaíba é basicamente composto por dois grandes grupos de compostos, uma parte predominantemente resinosa e uma parte essencial. A parte resinosa corresponde aos diterpenos, enquanto a parte essencial é formada por sesquiterpenos [2] [3] [10] [4]. Em estudo envolvendo amostras autênticas e comerciais de óleo-resina de copaíba, por meio de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrometria de massas, é possível identificar as duas regiões de eluição distintas nos cromatogramas analisados [4] (Figura 2).

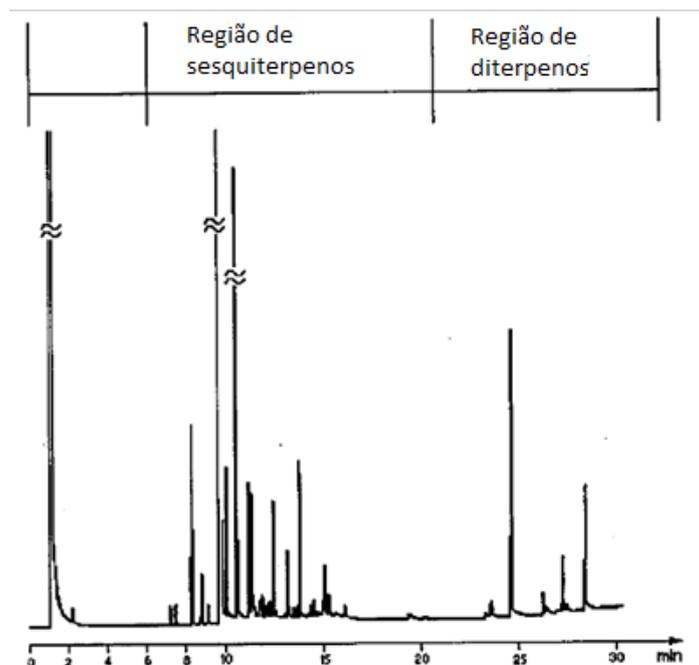


Figura 2: Espectros de CG-EM mostrando as regiões sesquiterpênicas e diterpênicas do óleo de copaíba (*Copaífera multijuga*) [4]

A Tabela 1 abaixo apresenta as ocorrências de compostos mais comuns na espécie *Copaífera multijuga* Hayne observados [7] [11].

Tabela 1: Grupo de compostos presentes na composição química do óleo da espécie *copaífera multijuga*.

Sesquiterpenos	Diterpenos
α -Copaeno, β -Cariofileno	Ácido copálico
γ -Elemeno, α -Curcumeno,	3- β -Acetoxy-copalic acid
α -Amorfeno, γ -Cadineno,	Pinifolic acid
δ -Cadineno, Óxido de cariofileno,	
α -Cadinol	

Nos estudos citados, os sesquiterpenos detectados em todas as amostras foram α -Copaeno, o β -Cariofileno, o α -Amorfeno e o óxido de Cariofileno, os diterpenos foram o ácido copálico e o ácido pinifolico. Em alguns lugares do norte do Brasil, caboclos fazem uso do mesmo, como combustível na iluminação pública.

Os componentes do óleo de copaíba têm sido extensivamente utilizados em vários tipos de indústrias e com diversas funções. Na indústria dos perfumes, as frações

sesquiterpênicas do óleo de copaíba são amplamente utilizadas como um fixador de odores. Suas notas frescas e acres combinam perfeitamente com essências portadoras de notas florais. [10] Além disso, na indústria dos vernizes, a fração resinosa possui aplicação como um excelente secativo, em solventes de pinturas de porcelanas e aditivo na confecção de borracha sintética. Na indústria dos cosmético é usado na fabricação de cremes, sabonetes, xampus e amaciantes para os cabelos. [2]

Além das aplicações industriais citadas acima, o óleo de copaíba possui aplicações farmacêuticas. Este insumo é conhecido por suas propriedades emolientes, bactericidas e anti-inflamatórias [2]. Substâncias como o hyrtiosal estão sendo sintetizadas em laboratório a partir do ácido copálico e sendo testadas no combate a diversos tipos de câncer. [12]

2. OBJETIVO GERAL:

O objetivo geral desse trabalho é utilizar-se de parâmetros físico-químicos, técnicas de separação de compostos de interesse e tecnologia de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas - CG-EM, afim de averiguar a autenticidade do insumo, e verificar a viabilidade do emprego destas técnicas em uma indústria química, junto com a equipe do Laboratório de Produtos Florestais do Serviço Florestal Brasileiro (LPF/SFB) associada ao Instituto de Química. (IQ/UnB).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Óleo

Existem diversos tipos de óleos, entre eles os óleo-resina, óleos essenciais e os óleos graxos. Os óleos essenciais são geralmente uma mistura de hidrocarbonetos de cadeia longa, alcoóis e compostos carbonílicos. Os compostos mais frequentemente encontrados pertencem a grupos de substâncias conhecidas como terpenos e, em menor frequência, sesquiterpenos [13]. Pela definição da ISO (International Organization for Standardization), os óleos essenciais são produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor de água [14].

Os óleos-resina podem ser caracterizados como um composto secundário que é derivado de carboidratos produzidos fotossinteticamente, o qual se constitui de sesquiterpenos (fração de óleo essencial) e ácidos diterpênicos (parte resinosa). [15]. Segundo Alencar (1982) o óleo-resina é produto da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias [16].

É bastante usual tratar o óleo resina com os mesmos parâmetros de qualidade que um óleo graxo [17] [1] [9].

3.1 Parâmetros físico-químicos

Índice de acidez:

As definições de índices de acidez e de éster utilizadas neste trabalho são as mesmas empregadas convencionalmente no estudo do controle de qualidade dos óleos graxos.

O índice de acidez corresponde à quantidade, em miligramas, de uma base (hidróxido de potássio) necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 1g de óleo ou gordura. Quanto maior for o índice de acidez, maior volume de base será consumida. A determinação do índice de acidez é importante pois fornece dados preciosos no que diz respeito ao estado de conservação de um óleo. Um elevado índice de acidez indica que o óleo ou gordura está sofrendo quebras em sua cadeia lipídica, liberando seus principais constituintes (ácidos graxos) [18]. O indicador utilizado é fenolftaleína 1%.

A acidez de um óleo é uma das principais características e tem importante impacto sobre seu preço e aproveitamento na indústria química. Vários fatores podem influenciar a acidez do óleo, mas o principal é o tratamento dado ao produto durante a colheita e o armazenamento. Moretto e Fett (1998) afirmam que a acidez livre não é uma constante característica, mas sim uma variável que está relacionada com a natureza e qualidade dos óleos vegetais [19] [20].

A decomposição dos óleos vegetais é acelerada pela ação da incidência de luz e da temperatura, sendo que a rancidez, muito frequentemente, é acompanhada pela formação dos ácidos graxos livres, que geralmente são expressados em termos de índice de acidez. O método é perfeitamente aplicável em óleos brutos e refinados, óleos-resina, vegetais e gorduras animais. Os métodos que avaliam a acidez titulável resumem-se em titular com soluções álcali-padrão, a acidez do produto [20].

Para se calcular o índice, a seguinte equação é utilizada:

$$IA = \frac{5,61 \times v \times f_c}{m} \quad (\text{eq. 1})$$

Onde : IA= Índice de acidez; v = volume de KOH utilizado; f_c= fator de correção da normalidade; m = massa da amostra.

Valores muito altos ou muito baixos de índice de acidez podem ser um indicador de matéria-prima de baixa qualidade, de manuseio e armazenamento impróprios ou de um processamento insatisfatório [21].

Índice de refração:

O índice de refração (η) absoluto de um meio é definido como a razão entre velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz em um certo meio. O índice de refração da luz no vácuo é considerado arbitrariamente como sendo igual a 1.

Sabe-se que o índice de refração depende da temperatura, da natureza da substância em estudo, comprimento de onda, pressão e da fonte de radiação. No caso de uma mistura homogênea, o η depende também de sua concentração. Conseqüentemente, o η é utilizado para caracterizar substâncias puras e para determinar a concentração de misturas homogêneas binárias [22].

De acordo com Moretto e Fett (1998),

“O índice de refração (I.R) está relacionado com o grau de insaturação das cadeias, compostos de oxidação e tratamento térmico. Os óleos e as gorduras possuem poderes de refringência diferentes e, de acordo com sua natureza desviam, com maior ou menor intensidade, os raios luminosos que os atravessam; assim, o índice de refração de uma gordura aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos.”.

Pode-se utilizar o índice de refração como um dos critérios de qualidade e identidade de um óleo, pois pode ser utilizado no processo de hidrogenação de óleos insaturados [23].

A Figura 3 mostra a refração da luz de um meio para o outro.

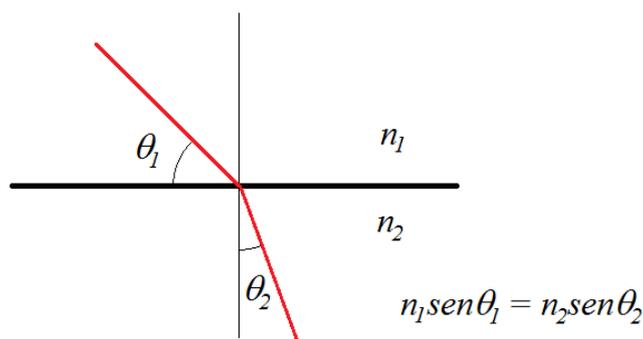


Figura 3: Lei de snell [24].

Viscosidade:

O conceito geral de viscosidade é bem familiar e está relacionado à facilidade com que os líquidos escorrem. De modo geral, pode-se dizer que a viscosidade de um líquido é a resistência que sofre uma camada do líquido para mover-se em relação a uma outra camada vizinha, ou que a resistência dos fluídos ao escoamento é medida por sua viscosidade. Os que escorrem lentamente, como óleos lubrificantes, são líquidos com elevada viscosidade. Já, acetona e benzeno, são líquidos de baixa viscosidade [25].

A viscosidade determina mais especificamente a taxa de deformação do fluido, que é gerada pela aplicação de uma dada tensão de cisalhamento [25]. Existem vários tipos de viscosidade, dentre elas, as mais comuns são a dinâmica ou absoluta (η) e a cinemática:

Viscosidade absoluta (η): É a viscosidade medida por um sistema de geometria que não está influenciada pela gravidade para obtenção dessa medida. É expressa em unidades de Poise ou centiPoise (m.Pa.s).

Viscosidade cinemática: É a viscosidade medida por um sistema de geometria que usa a gravidade para obtenção dessa medida; sua unidade é o Stokes ou centiStokes, em que o Stoke é igual ao Poise, dividido pela densidade do fluido (1 Stoke = 100 centiStokes = mm²/seg).

A viscosidade relativamente alta dos óleos se dá às atrações intermoleculares das grandes cadeias de ácidos graxos que constituem os triglicerídeos. De maneira geral, a viscosidade dos óleos é inversamente proporcional ao aumento de insaturações em sua cadeia [26].

Segundo WHITE (2011), a relação entre a diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura, pode ser aproximada a uma relação exponencial, demonstrada na equação abaixo, onde μ é a viscosidade, T é a temperatura e a e b são constantes [25].

$$\mu \approx ae^{-bT}$$

Ainda segundo WHITE (2011), outro ajuste pode ser obtido, o quadrático entre o logaritmo da viscosidade e o inverso da temperatura, onde, a, b e c são constantes [25].

$$\ln \frac{\mu}{\mu_0} \approx a + b \left(\frac{T}{T_0} \right) + c \left(\frac{T_0}{T} \right)^2$$

O fato da viscosidade dos líquidos diminuir com o aumento da temperatura é efeito do distanciamento das moléculas da substância durante o aquecimento. Esse distanciamento provoca uma redução nas forças de atração entre as moléculas e, conseqüentemente, diminui a viscosidade [27].

Existe um grande número de viscosímetros comerciais para serem escolhidos de acordo com a suas faixas de viscosidade e taxas de cisalhamento necessárias para o trabalho ou estudo. Os critérios para a escolha devem levar em consideração a natureza do material, se o material utilizado é de baixa ou alta viscosidade; se possui elasticidade ou não e a dependência da temperatura na viscosidade. Outro fator importante a ser considerado é a precisão e a exatidão requeridas e se as medidas são para controle de qualidade ou para pesquisa [28].

Densidade:

A densidade é definida pela relação entre a massa e o volume de um material. No sistema internacional (SI) sua unidade é kg/m^3 , entretanto, o g/cm^3 também é muito utilizado. O significado físico desta propriedade indica o quanto de matéria está contida por uma unidade de volume, auxiliando na caracterização das substâncias. É inversamente proporcional ao volume; sendo assim, quanto maior a densidade menor será o volume ocupado, para uma mesma massa da substância.

$$\text{Densidade} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{volume (mL)}}$$

É uma propriedade que varia com a temperatura e ocorre de maneira inversamente proporcional: quanto maior for a temperatura, menor a densidade [29].

3.2 Técnicas de separação

Destilação por arraste de vapor

Neste processo, o material a ser destilado fica em contato direto com a água em ebulição, flutuando ou imerso no líquido, dependendo da quantidade de material que é colocado no recipiente de destilação [30].

A Figura 4 apresenta um esquema representativo dos componentes montados de uma hidrodestilação.

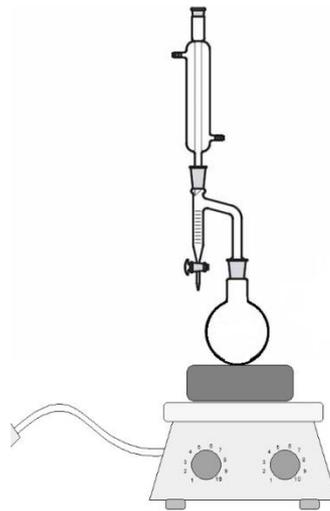


Figura 4: Esquema demonstrativo para hidrodestilação (imagem da web com adaptações)

Ao atingir uma temperatura de aproximadamente 100°C, a água começa a entrar em ebulição. A água em seu estado gasoso fica então, contido embaixo da camada de óleo até que exerça uma força suficiente para romper a barreira criada pela camada de óleo. À medida que a água atravessa o óleo bruto, os compostos que são mais voláteis e polares são arrastados junto com a água e levados para um condensador. Após condensarem, o produto da destilação é separado pelo Clevenger e recolhido.

Cromatografia

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura. Essa técnica se destaca devido à sua facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise [31]. É uma técnica realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases de polaridades diferentes, que estão em contato direto. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Existem diversos tipos de cromatografia, para este trabalho a cromatografia em coluna e a gasosa foram as utilizadas:

Cromatografia em camada delgada:

Na cromatografia em camada delgada (ou conhecida como CCD), utiliza-se uma placa cromatográfica de suporte revestida pela fase estacionária (sílica gel). Inicialmente, a amostra é dissolvida em um solvente de polaridade adequada e, então, uma certa alíquota desta solução é aplicada na região de partida e o conjunto é seco. A placa é colocada em uma câmara onde contém o solvente [32]. Inicia-se o desenvolvimento cromatográfico, onde os componentes da amostra são carregados por capilaridade através da placa cromatográfica.

No momento em que a fase móvel começa a migrar pela placa, as substâncias que possuem afinidade com a fase móvel começam a ser arrastadas. De acordo com a interação de cada substância com a fase móvel e estacionária, estes compostos podem ser mais ou menos carregados pela fase móvel. As forças de interação da fase estacionária se opõem à força de arraste da fase móvel, retardando o avanço dos componentes. Após o solvente atingir uma certa altura, utiliza-se um revelador para identificação da distância percorrida pelos compostos e assim realizar o cálculo do fator de retenção (RF) [31]. A Figura 5 exemplifica como medir as distâncias para o cálculo do fator de retenção. O RF pode ser calculado através da Equação 5:

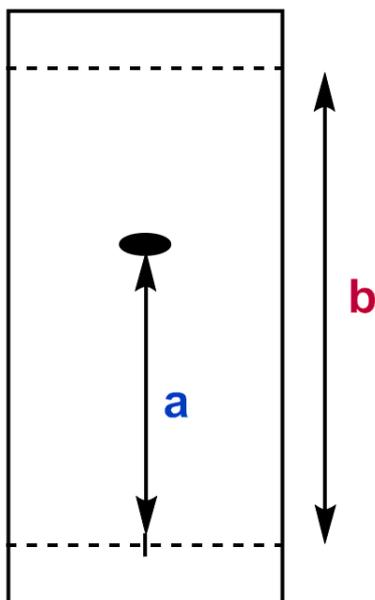


Figura 5: Placa cromatográfica para CCD demonstrando as distâncias para o cálculo de R_F ^[33].

$$R_F = \frac{\text{Distância do centro da mancha à linha de partida}}{\text{Distância da frente do eluente à linha de partida}} \quad (\text{eq. 5})$$

Existem muitas aplicações para a CCD, tais como: checar a eficiência de uma separação, estabelecer a identidade de dois compostos; e monitorar o andamento de uma reação.

Cromatografia em coluna:

A cromatografia em coluna consiste na separação dos componentes de uma mistura, onde a fase móvel (líquida), migra por um tubo de vidro vertical preenchido com sílica (ou outra fase estacionária). A fundamentação do processo de separação está, principalmente, nas diferentes interações entre a amostra com o solvente (fase móvel) e com a fase estacionária. Pode ser utilizada para determinar o número de componentes de uma mistura, estabelecer a identidade de dois compostos, monitorar uma separação realizada por cromatografia em coluna, através da identificação de frações coletadas, e, determinar o solvente apropriado para uma separação por cromatografia em coluna [11] [32].

Escolha da fase estacionária:

A sílica é recomendada na maioria dos casos. Este adsorvente é levemente ácido, retendo com maior intensidade compostos básicos. O tamanho das partículas do adsorvente afeta o fluxo do solvente através da coluna. É uma fase estacionária que pode ser obtida em diversos tamanhos que é dado através do valor de mesh. Quanto maior o valor de mesh menor o tamanho da partícula (exemplo: sílica gel 230-400 tem partículas menor que sílica gel 60).

Tipicamente, a Sílica gel mesh de 70-230, é indicado para fazer coluna utilizando somente a força da gravidade para eluição. Para a cromatografia flash, partículas de sílica gel com mesh de 230-400, podem ser utilizadas para acelerar a eluição, visto que uma pressão externa está sendo exercida. Isto acontece, pois, partículas menores tem uma maior superfície de contato e permitem maior eficiência na eluição mesmo em velocidades maiores [11] [32].

Escolha do solvente:

A escolha do solvente é o fator mais importante dentro da cromatografia em coluna. Em um laboratório de química há uma quantidade muito grande de solventes a disposição, o que dificulta a escolha adequada. Para se obter uma boa separação e utilizar a menor quantidade de solvente possível, recomenda-se testar previamente o sistema de solventes em uma placa de cromatografia de camada delgada (CCD) [11].

Geralmente, há uma preferência para solventes mais baratos e que não possuam uma alta toxicidade (não halogenados, por exemplo). Solventes que possuam baixo ponto de ebulição são mais fáceis de se separar do produto através de uma evaporação. Os solventes mais utilizados são: éter de petróleo mais hexano, hexano mais acetato de etila ou diclorometano, diclorometano mais metanol [32] [34] [35].

Tamanho da Coluna:

O tamanho da coluna, influencia no tempo em que a amostra leva para percorrer a fase estacionária. Para compostos com polaridade muito semelhantes, recomenda-se uma altura de coluna maior de adsorvente. No entanto, na prática, a maioria das pessoas escolhe um tamanho de coluna que permita ao adsorvente ocupar 1/3 do tamanho total, sem considerar o

solvente. Esta escolha depende da quantidade de adsorvente disponível, das características da coluna utilizada (mais fina, comprida, etc) e da polaridade dos compostos de interesse [11] [32] [35].

A quantidade de adsorvente a ser utilizada, depende da quantidade de amostra a ser separada. A quantidade utilizada não precisa ser exata, mas deve ser aproximada para evitar desperdício de tempo e recursos. Como a densidade do adsorvente varia com o tipo, é aconselhável medir a quantidade de adsorvente através do peso.

Outro fator a ser considerado, é o grau de dificuldade da separação dos componentes da amostra. Quanto mais difícil é a separação, maior quantidade de adsorvente deve ser utilizada. Utilizando uma cromatografia em camada delgada (CCD), é fácil saber a proporção de sílica necessária para a separação. A Figura 6 ilustra um guia para utilizar a razão aproximada de adsorvente por grama de amostra corretamente.

Razão aproximada Adsorvente (g)/ Amostra (g)	
Separção simples	20:1
Separção média	50:1
Separção difícil	Até 100:1

Figura 6: Razão aproximada de adsorvente (g) para cada grama de amostra para diferentes dificuldades de separação.

Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação e análises de misturas de substâncias voláteis. Inicialmente a amostra é vaporizada e introduzida em um fluxo de gás (fase móvel ou gás de arraste). Este fluxo de gás passa por um tubo contendo a fase estacionária onde ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna dissolvidas no gás de arraste e passam por um detector; dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluído. O registro deste sinal em função do tempo é o

cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa [36].

As características de um sistema de cromatografia gasosa são: retenção/ seletividade, eficiência e resolução. É uma técnica que possui diversas vantagens como um alto poder de resolução, alta sensibilidade e não necessita de grandes quantidades de amostra. Entretanto, há algumas limitações como a necessidade de volatilizar as amostras, o que requer um preparo prévio, as análises são longas e possuem um custo elevado. Além disso, pode ser acoplada a detectores qualitativos como espectrômetro de massas.

Espectrometria de massas

Técnica analítica extremamente valiosa em que moléculas em uma amostra são convertidas em íons em fase gasosa, que são subsequentemente, separados no espectrômetro de massas de acordo com sua razão massa (m) sobre a carga (z), m/z . O espectro de massa é um gráfico que mostra a abundância (intensidade) relativa de cada íon que aparece como picos com m/z definidos [25].

O espectrômetro de massa possui cinco componentes: unidade de entrada da amostra, fonte de ionização, analisador de massa, detector e sistema de dados. A unidade de entrada de amostra traz a amostra do ambiente laboratorial (1 atm) para a pressão mais baixa do espectrômetro de massa. As pressões dentro do equipamento vão de alguns poucos milímetros de mercúrio em uma fonte de ionização química até alguns micrômetros de mercúrio nas regiões o analisador de massa e do detector do instrumento. A unidade de entrada da amostra leva até a fonte de íons, onde as moléculas da amostra são transformadas em íons em fase gasosa. Os íons são acelerados por um campo eletromagnético. A seguir, o analisador de massa separa os íons da amostra baseado em sua razão massa/carga (m/z). Os íons são contados pelo detector e o sinal é registrado e processado pelo sistema de dados em um computador. O produto do sistema de dados é o espectro de massa, que é um gráfico do número de íons detectados como uma função de sua razão m/z [34].

3.3 Separação líquido-líquido

A extração por solvente é a transferência de uma espécie de soluto de sua localização inicial para um solvente conhecido como solvente de extração. Quando o soluto estiver em solução, o processo de extração é chamado de extração líquido-líquido e o solvente de extração deverá ser parcialmente imiscível com o solvente original [37].

Na extração líquido-líquido é estabelecido o contato entre as duas fases líquidas total ou parcialmente imiscíveis, havendo a transferência de um ou mais solutos de uma delas (refinado) para a outra (extrato) [38]. A operação de extração líquido-líquido é normalmente aplicada quando este método é o mais disponível ou o mais econômico.

No processo de extração líquido-líquido, têm-se as denominações:

- Solução de Alimentação = solução ou mistura original que contém o soluto;
- Solute = constituinte a ser extraído da solução ou mistura original;
- Solvente = líquido que extrai o soluto da solução ou mistura original;
- Extrato = fase rica em solvente que contém o soluto extraído;
- Refinado = fase pobre em solvente que contém o soluto não extraído;
- Inerte ou Diluente = é o maior constituinte líquido que junto ao soluto compõe a solução de alimentação.

Para a escolha dos solventes para este método, alguns fatores devem ser levados em consideração: Devem ser imiscível à solução de alimentação, formando duas fases distintas, não podem reagir quimicamente com o soluto, a substância deve ser mais solúvel no segundo solvente e o solvente deve ser volátil.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras dos óleos-resinas de copaíba

As amostras do óleo de copaíba comercial (OCC) foram obtidas de várias regiões do Brasil provenientes de diferentes espécies e foram coletadas em diferentes épocas do ano. Algumas amostras foram compradas em feiras que vendiam o produto pelo nome de óleo de copaíba. A maioria das amostras foram armazenadas em seus recipientes originais (plástico). Todas foram mantidas à temperaturas amenas (cerca de 25°C) ao abrigo de luz e calor dentro do Laboratório de Produtos Florestais do Serviço Florestal Brasileiro (LPF/SFB).

Notou-se uma grande variabilidade nas amostras em termos macroscópicos. Coloração, odor e viscosidade foram os fatores mais perceptíveis ao primeiro contato. Em alguns exemplares, não havia nenhuma garantia de que eram completamente autênticas, livre de adulterações. Não houve nenhum tratamento prévio. A Figura 7 apresenta um exemplo da variabilidade de características do OCC.



Figura 7: Amostras de óleos de copaíba comerciais

4.2 Índice de refração

Inicialmente, foi medido o índice de refração de cada óleo, utilizando um refratômetro como o da figura abaixo (Atago Tokyo). Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, pingou-se uma gota do óleo comercial de copaíba na área de leitura e seu índice de refração (n) foi lido. Em seguida, com um papel macio embebido em álcool isopropílico, a área de leitura foi devidamente limpa para a próxima repetição. A Figura 8 mostra o equipamento utilizado. A figura 9 ilustra um índice de refração a ser lido. O procedimento foi realizado em triplicata para todas as amostras do óleo.



Figura 8: Refratômetro utilizado



Figura 9. Valores a serem lidos na escala de refração
(leitura a ser feita: 1,507)

4.3 Densidade

Com o auxílio de um picnômetro como o da Figura 10, obtivemos os valores de densidade para cada um dos óleos de copaíba. A calibração do instrumento foi feita utilizando água destilada. Inicialmente, pesou-se o picnômetro e sua massa foi anotada. Em seguida, a água destilada foi adicionada ao picnômetro até completar seu volume e sua “tampa” foi fechada, sempre secando o lado externo para garantir que não havia água por fora do instrumento. O volume do picnômetro foi adquirido pela relação entre a massa medida de água e sua densidade à temperatura ambiente.



Figura 10: Picnômetro utilizado para medir densidade de líquidos.

Após a calibração, as amostra de óleo de copaíba comerciais foram colocadas dentro do picnômetro sempre garantindo que ele estava seco por fora. O instrumento foi levado para uma balança de precisão analítica e sua massa medida. O procedimento realizado em triplicata. A densidade de cada amostra foi calculada pela razão entre a massa da amostra e o volume do instrumento.

$$\rho = \left(\frac{B-A}{C-A} \right) * \rho_{\text{água}} \quad (\text{eq. 4})$$

Onde ρ e $\rho_{\text{água}}$ são a densidade (g/cm^3) da amostra e da água a temperatura ambiente, respectivamente; A é a massa do picnômetro vazio; B é massa do picnômetro com a amostra; C é a massa de água destilada.

4.4 Viscosidade:

O viscosímetro utilizado neste trabalho é o capilar. São os viscosímetros mais antigos, nos quais a tensão de cisalhamento é fornecida em função da pressão a que o fluido é submetido ao fluir através de um tubo capilar. Eles são precisos nas medidas de viscosidade de fluidos newtonianos, até valores de 20.000 mPa.s. Uma desvantagem deste tipo de viscosímetro é que a velocidade de cisalhamento varia de zero, no centro do capilar, a um valor máximo nas paredes [25]. A viscosidade é medida pela velocidade de escoamento do líquido através de um capilar de vidro, medida pelo tempo gasto por uma quantidade definida de certo líquido para fluir através de um tubo de raio e comprimento conhecidos.

Os ensaios de viscosidade foram feitos em triplicata utilizando um viscosímetro capilar calibrado da marca Fisherbrand de tamanho 150 (constante de calibração de 0,03755) à 40°C como o da figura 11 .

Aproximadamente 7 mL do óleo foi adicionado ao viscosímetro capilar e este foi deixado em banho-maria até entrar em equilíbrio térmico com a água (cerca de 10 minutos). Após o equilíbrio, com o auxílio de um pipetador automático para pipetar o óleo até acima da linha indicada no viscosímetro. Por gravidade, o peso da coluna do próprio fluido é a força que causa o escoamento no interior do capilar e conseqüentemente. o óleo começa a escoar pelo capilar.

Ao atingir a primeira marca do instrumento, o cronômetro é acionado. No momento em que a segunda marca do viscosímetro (parte inferior) é atingida pelo menisco do óleo, o cronômetro foi parado e o tempo anotado.



Figura 11: Viscosímetro de 150 com óleo comercial de copaíba.

O mesmo procedimento citado acima foi utilizado para as amostras que possuíam viscosidades elevadas, porém, em um viscosímetro capilar calibrado da marca Fisherbrand de tamanho 200 (constante de calibração de 0,0955).

4.5 Índice de acidez

Os ensaios foram realizados conforme a metodologia de Vasconcelos & Godinho (2002) ^[6]. Foram preparadas soluções de KOH 0,1 M e HCl 0,5M e estas foram padronizada com a solução de Na₂CO₃. Após a padronização das soluções, suas respectivas concentrações molares foram anotadas. No método proposto valores de IA maiores que 80 indicam que amostra é autêntica.

Pesou-se cerca de 2 g do óleo em um erlemeyer de 125 mL e a seguir adicionou-se 25 ml da mistura éter etílico: álcool etílico (2:1) acompanhado de agitação. Adicionou-se a seguir 2 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína 1% e titulou-se com a solução 0,1 M de hidróxido de potássio (previamente padronizada) até que a solução incolor adquiere uma coloração rósea.

4.6 Destilação com arraste de vapor

Um esquema foi montado conforme Figura 12 e 20g do óleo bruto de copaíba comercial foi adicionado a um balão com 100 mL de água destilada com três pastilhas de ebulição dentro. O balão foi então aquecido durante um período de 90 minutos para que a água ao entrar em ebulição, arrastasse os componentes mais voláteis (arraste a vapor) até um

condensador e em seguida fossem coletados. Utilizou-se apenas três amostras de óleo (OCC-09, OCC-15, OCC-21) pois as outras amostras não possuíam volume suficiente para a realização da técnica de separação.

Foram utilizados 4 componentes para a hidrodestilação:

- Balão de hidrodestilação: Contendo o óleo de copaíba comercial, água e pastilhas de ebulição para a hidrodestilação.
- Chapa de aquecimento: Utilizada para aquecimento do balão contendo a amostra.
- Condensador: Vidraria utilizada para condensar o vapor contendo frações voláteis do óleo.
- Dean Stark: Após condensado, o óleo essencial é coletado neste aparato para separação das partes de água do óleo.

O experimento foi realizado em triplicata e o seu rendimento calculado pela média das repetições. As amostras foram acondicionadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração.



Figura 12: Esquema montado para hidrodestilação

4.7 Cromatografia em coluna

Os procedimentos de cromatografia em coluna foram feitos segundo Fabiano S. Vargas et. al^[39]. Aplicou-se a metodologia para isolamento da fração ácida de óleos copaíba de diferentes espécies. Foi utilizado sílica com espessura 70-230 mesh impregnada com KOH

para cromatografia. Para preparação, cada 100g de sílica foi homogeneizada com 100 mL de solução aquosa de KOH 10%. Após preparo, a sílica foi seca em estufa à 80 °C por 24h.

Em frasco separado foi colocado a sílica e o solvente. Com o auxílio de um funil, a “pasta” de sílica foi adicionada à coluna. Gentilmente, bateu-se algumas vezes na coluna afim de expulsar bolhas de ar e auxiliar o empacotamento. As bordas foram lavadas com o solvente e este foi drenado até que atingiu o mesmo nível da fase estacionária.

Em seguida, o óleo bruto foi dissolvido em diclorometano e eluído com 1200 mL deste mesmo solvente. Após a eluição de todo diclorometano, eluiu-se a coluna com 600 mL de metanol acidificado a pH 4. A fração coletada foi em seguida rotoevaporada à vácuo e a massa do balão foi medida. A Figura 13 apresenta o esquema montado para a cromatografia em coluna.



Figura 13: Coluna cromatográfica e rotoevaporador à vácuo.

4.8 Cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (CG-EM)

Após concluída a rotoevaporação do balão na cromatografia em coluna, as duas frações obtidas foram levadas para análises de cromatografia gasosa. Uma alíquota de 10 μ L foi retirada e avolumada com n-hexano para um balão volumétrico de 10 mL. Após homogeneização, esta solução foi leva ao CG-EM.

Para a fração diterpênica (metanólica) um procedimento diferente foi adotado pela necessidade de volatilização da amostra. Em um balão volumétrico de 10 mL, pesou-se 1g da amostra e este foi avolumado com n-hexano. Após a dissolução completa, adicionou-se 500 μ L de uma solução metanólica de NaOH 0,1 M. Para que a reação de transesterificação fosse completada, a solução foi submetida a uma forte agitação durante 20 segundos. Após a metilação dos ácidos carboxílicos livres, 100 μ L desta nova solução foi avolumada para 10 mL e então, esta solução final foi levada para o CG-EM.

4.9 Separação líquido-líquido

Uma separação líquido-líquido foi feita afim de se caracterizar as frações de compostos que estariam contidos em cada parte do solvente. Inicialmente, 5 gramas de óleo de copaíba comercial foi pesada em uma balança analítica e sua massa anotada. Em seguida o mesmo foi dissolvido em 25 mL metanol e adicionado a um funil de separação. Alíquotas de 5 mL de n-hexano foram adicionadas à solução até atingir o volume de 25 mL.

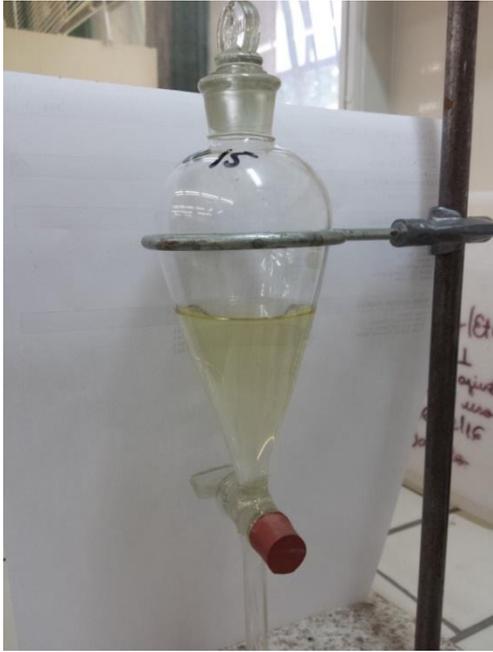


Figure 14 OCC-15 atuando entre as fases metanol/n-hexano não permitindo a separação.



Figura 15: Separação líquido-líquido efetiva do óleo bruto em metanol (parte inferior) e n-hexano (superior).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS:

5.1 Resultados de Densidade

. Os dados de densidade estão listados na Tabela 2, a seguir:

Tabela 2: Dados de densidade média das amostras de óleo de copaíba comercial

Amostra	Densidade média (kg/m³)	Desvio padrão	Amostra	Densidade média (kg/m³)	Desvio padrão
OCC 01	0,9165	0,0040	OCC 19	0,9815	0,0114
OCC 02	0,9280	0,0058	OCC 20	0,9555	0,0135
OCC 03	0,9248	0,0047	OCC 21	0,9376	0,0140
OCC 04	0,9276	0,0076	OCC 22	0,9694	0,0048
OCC 05	0,9430	0,0153	OCC 23	0,9430	0,0072
OCC 06*	-----	-----	OCC 24	0,9333	0,0061
OCC 07	0,9331	0,0089	OCC 25	0,9374	0,0091
OCC 08	0,9512	0,0062	OCC 26	1,0064	0,0032
OCC 09	0,9229	0,0045	OCC 27	1,0173	0,0212
OCC 10	0,9129	0,5638	OCC 28	1,0011	0,0232
OCC 11	0,9318	0,0086	OCC 29	0,9803	0,0156
OCC 12	0,9272	0,0037	OCC 30	0,9269	0,0109
OCC 13	0,9210	0,0063	OCC 31	0,9502	0,0112
OCC 14	0,9892	0,0149	OCC 32	0,9688	0,0136
OCC 15	1,0002	0,0193	OCC 33	0,9772	0,0038
OCC 16	0,9745	0,0040	OCC 34	0,9810	0,0133
OCC 17	0,9467	0,0064	OCC 35	0,9889	0,0315
OCC 18	0,9374	0,0053	-----	-----	-----

As densidades médias de cada amostra variam entre valores de 0,9165 g/mL à 1,0173 g/mL e o valor médio de densidade para todas as amostras é de 0,9528 g/cm³.

A Figura 16 mostra graficamente a distribuição de densidade média de cada óleo:

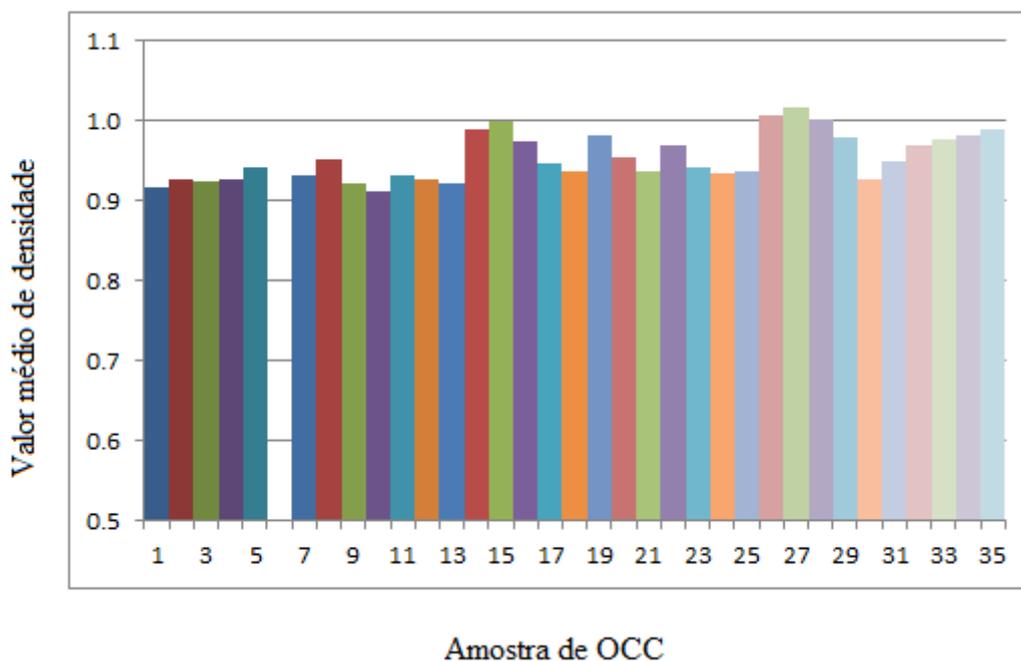


Figura 16: Distribuição de densidade média dos OCC

*A amostra OCC-06 não possui valor de densidade média, pois não possuía o volume necessário para análise.

Pode-se explicar essa variabilidade de densidade média entre as amostras pelo fato de que não é uma biomassa com características constantes. Há vários fatores como a sazonalidade, ataque de micro-organismos, condições do solo que alteram a proporção de sesquiterpenos e diterpenos dentro do óleo, além de alguns adulterantes que podem influenciar a densidade deste insumo.

Observando a distribuição de densidade das amostras, pode-se facilmente observar a disparidade entre os valores de densidade de algumas amostras. Amostras como OCC-26, OCC-27 e OCC-28 possuem densidade média elevada (maior que 1) enquanto que as amostras OCC-01 e OCC-30 possuem uma densidade relativamente baixa (pouco acima de 0,91). Essa disparidade entre os valores apresentados ratificam a necessidade de outros parâmetros físico-químicos para a caracterização mais precisa deste insumo.

5.2 Resultados de índice de refração:

É sabido que as características físico-químicas do OCC são variáveis. Fatores como a sazonalidade, ataques à planta por outros seres vivos, clima e a variabilidade de espécie para espécie podem influenciar a composição do OCC. Já foi dito neste trabalho que o índice de refração é dependente da concentração de compostos contidos no óleo.

A Tabela 3 apresenta os valores obtidos de índice de refração para as amostras. Todas as amostras disponíveis foram analisadas no refratômetro.

Tabela 3: Índices de refração média para cada amostra de óleo de copaíba comercial

Amostra	Índice de refração médio	Desvio Padrão	Amostra	Índice de refração médio	Desvio Padrão
OCC 01	1,5013	0,0006	OCC 19	1,5130	0,0000
OCC 02	1,4887	0,0006	OCC 20	1,5023	0,0006
OCC 03	1,4690	0,0000	OCC 21	1,5050	0,0000
OCC 04	1,4963	0,0006	OCC 22	1,5117	0,0006
OCC 05	1,5070	0,0000	OCC 23	1,4937	0,0006
OCC 06	1,5027	0,0006	OCC 24	1,4940	0,0000
OCC 07	1,4890	0,0000	OCC 25	1,4943	0,0006
OCC 08	1,5010	0,0000	OCC 26	1,5170	0,0000
OCC 09	1,5013	0,0006	OCC 27	1,5200	0,0000
OCC 10	1,5087	0,0006	OCC 28	1,5190	0,0000
OCC 11	1,4950	0,0000	OCC 29	1,5097	0,0006
OCC 12	1,5043	0,0006	OCC 30	1,4793	0,0006
OCC 13	1,4780	0,0000	OCC 31	1,5073	0,0006
OCC 14	1,5130	0,0000	OCC 32	1,5107	0,0006
OCC 15	1,5160	0,0000	OCC 33	1,5100	0,0000
OCC 16	1,5113	0,0006	OCC 34	1,5100	0,0000
OCC 17	1,4923	0,0006	OCC 35	1,5133	0,0006
OCC 18	1,5080	0,0000	-----	-----	-----

Pelos trabalhos de Ederly Santos Silva, et. al., o índice de refração de amostras autênticas está próximo de 1,510 [17]. Das amostras de óleos, 24 exemplares apresentaram

valores de índice de refração próximo de 1,510. Sendo eles OCC (01; 05; 06; 08; 09; 10; 12; 14; 15; 16; 18, 19; 20; 21; 22; 26; 27; 28; 29; 31; 32; 33; 34; 35). As amostras OCC-15 e OCC-33 são conhecidamente autênticas e possuem seus valores de η próximos a 1.51, entretanto, pequenas variações em torno deste valor são aceitáveis devido à grande quantidade de fatores que influenciam as propriedades físico-químicas deste óleo. Amostras como por exemplo OCC-03 ($\eta = 1,4690$) foram muito provavelmente adicionadas de adulterantes pois seu índice de refração é muito divergente daquele valor esperado e encontrado para amostras autênticas.

Os resultados obtidos mostraram índices de refração variando na faixa de 1,4690 e 1,5200. O valor médio do índice de refração para todas as amostras de OCC é de 1,5027.

A Figura 17 ilustra a distribuição de índice de refração médio para cada amostra:

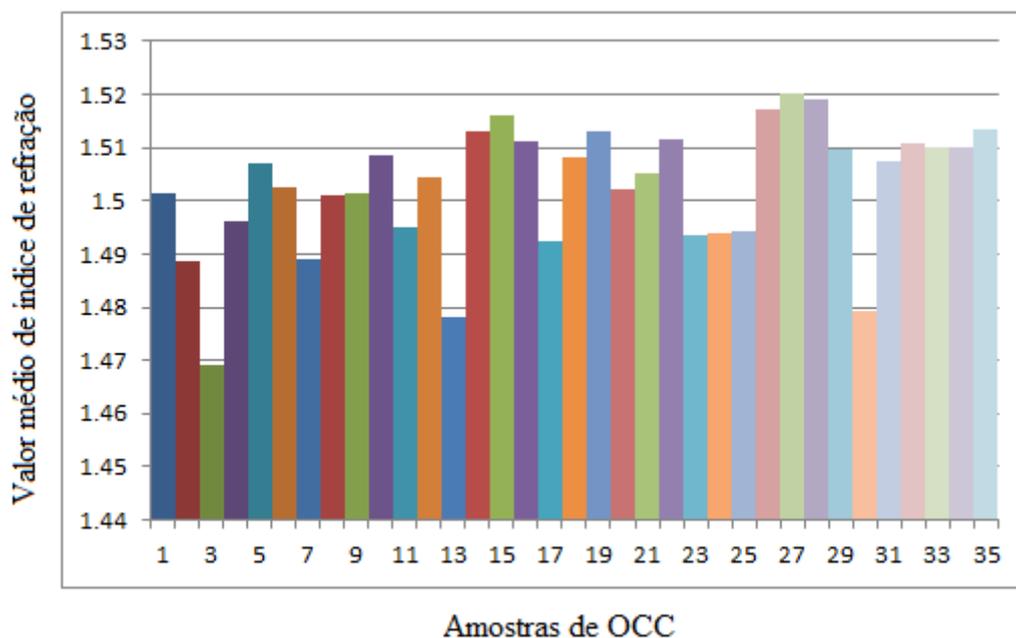


Figura 17: Gráfico do índice de refração médio de cada amostra de OCC.

Observando a Figura 17, pode-se dizer que o índice de refração é um parâmetro importante para a verificação de adulterações grosseiras. As amostras OCC-03, OCC-13 e OCC-30 possuem um valor de índice de refração muito baixo, estas são provavelmente

amostras adulteradas. Entretanto, deve-se levar em consideração que sozinho, não é suficiente para afirmar com certeza que amostras que possuem variação em seus η (que não seja muito acentuado) são adulteradas. Além dos fatores já citados, a maneira como o OC foi extraído, armazenado e manuseado, podem interferir diretamente e alterar os valores de η , sem necessariamente implicar em adulterações.

5.3 Resultados de viscosidade:

As aferições de viscosidade foram feitas utilizando um banho térmico com temperatura controlada digitalmente e com agitação constante afim de homogeneizar termicamente o meio. De acordo com o fabricante do viscosímetro, existe outra temperatura sugerida para a aferição (100°C), contudo, a temperatura de ebulição da água e a pressão atmosférica do laboratório, não permitiram a realização de aferições de viscosidade à esta temperatura.

Após concluído as medições de viscosidade com o viscosímetro Fischerbrand calibrado de tamanho 150, as amostras que não se enquadraram na faixa garantida pelo equipamento calibrado foram novamente analisadas utilizando-se um viscosímetro do mesmo fabricante, porém de tamanho 200. As amostras que não se encaixaram dentro das faixas dos dois viscosímetros, não tiveram suas viscosidades medidas por falta de instrumentos no laboratório. Os dados referentes às análises de viscosidade estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados de viscosidade para os dois tipos de viscosímetro

Amostra	Viscosidade média (centistokes)	Desvio padrão	Amostra	Viscosidade média (centistokes)	Desvio padrão
OCC-01 ¹	8,0420	0,0055	OCC-19 ³	-----	-----
OCC-02 ¹	21,9292	0,2345	OCC-20 ²	53,4800	0,3443
OCC-03 ²	40,1736	0,2403	OCC-21 ¹	19,9338	0,1035
OCC-04 ¹	17,8334	0,2359	OCC-22 ²	67,2956	0,4901
OCC-05 ¹	19,2381	0,1207	OCC-23 ¹	26,0347	0,1517
OCC-06 ¹	11,4903	0,0650	OCC-24 ¹	22,7178	0,1636
OCC-07 ¹	26,1098	0,3280	OCC-25 ¹	30,3029	0,1353
OCC-08 ²	42,5930	0,1910	OCC-26 ³	-----	-----
OCC-09 ¹	9,0092	0,0969	OCC-27 ³	-----	-----
OCC-10 ²	39,4096	0,2917	OCC-28 ³	-----	-----
OCC-11 ¹	18,1478	0,3696	OCC-29 ²	41,1286	0,2205
OCC-12 ¹	14,1063	0,0573	OCC-30 ¹	28,7778	0,6214
OCC-13 ¹	27,3489	0,0573	OCC-31 ¹	17,1799	0,3561
OCC-14 ³	-----	-----	OCC-32 ¹	32,8046	0,2074
OCC-15 ³	-----	-----	OCC-33 ³	-----	-----
OCC-16 ²	41,3515	0,9110	OCC-34 ²	73,7578	0,1458
OCC-17 ²	41,6061	0,3353	OCC-35 ²	91,8073	1,2996
OCC-18 ³	-----	-----	-----	-----	-----

Os valores de viscosidade foram obtidos a partir do tempo de escoamento de um ponto marcado no viscosímetro a outro. O fabricante fornece junto com o próprio instrumento, um valor de constante para conversão de segundos para a unidade de viscosidade. A maneira como a viscosidade foi calculada está apresentada no apêndice.

O mesmo cálculo foi utilizado para as outras amostras do óleo de copaíba comercial e estão apresentadas na Figura 18.

¹ Amostras medidas no viscosímetro de tamanho 150.

² Amostras medidas no viscosímetro de tamanho 200.

³ Amostras não analisadas por não possuir volume suficiente ou possuir viscosidade muito elevada.

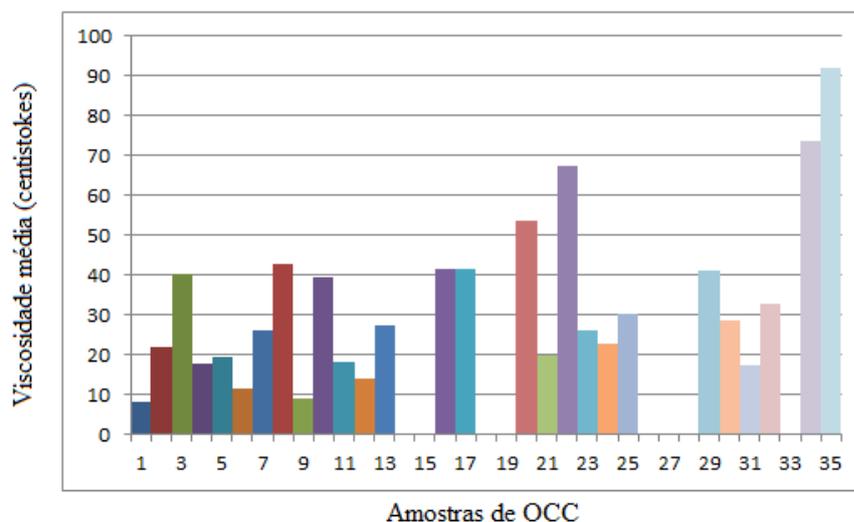


Figura 18: Distribuição de viscosidade das amostras de OCC.

A viscosidade média para as amostras de OCC que se encaixaram na faixa do viscosímetro de 150 foi de 20.6474 centistokes. Enquanto que para o viscosímetro de 200, a viscosidade média foi de 53.2603 centistokes.

As medidas de viscosidade possuem importância fundamental dentro de uma indústria química. É uma propriedade que deve ser levada em consideração ao se pensar em uma indústria de tintas e vernizes, por exemplo. As amostras que possuem uma viscosidade maior, provavelmente possuem uma maior quantidade de diterpenos em sua composição, que são os compostos de interesse para essa finalidade [10]. Além disso, toda a logística deve ser pensada ao se considerar as forças e tensões que um fluido mais viscoso pode exercer em tubulações e encanamentos.

5.4 Resultados de índice de acidez

O índice de acidez nos permite saber se os óleos em geral possuem adulterações, assim como avaliar aproximadamente o teor de adulterante presente. Entretanto, este parâmetro não fornece nenhuma informação a respeito da natureza do adulterante.

Os resultados de índices de acidez média dos óleos de copaíba comerciais estão mostradas na tabela 5, dos quais tiveram valores entre 10.3458 à 98.4862 mg KOH/g de óleo.

O valor médio de acidez foi de 51.9933 mg KOH/g de óleo bruto. As amostras que não possuíam volume suficiente ou coloração muito forte não tiveram seus índices de acidez aferidos.

Tabela 5: Dados obtidos para índice de acidez médio das amostras de OCC.

Amostra	Índice de acidez médio (mmgKOH)	Desvio Padrão	Amostra	Índice de acidez médio (mmgKOH)	Desvio Padrão
OCC 01	16,1499	0,07530	OCC 19	70,1961	0,1156
OCC-02⁴	-----	-----	OCC 20	40,5575	0,1960
OCC-03⁴	-----	-----	OCC 21	36,0240	0,4070
OCC-04⁴	-----	-----	OCC 22	58,4813	0,3878
OCC-05⁴	-----	-----	OCC-23⁴	-----	-----
OCC-06⁴	-----	-----	OCC-24⁴	-----	-----
OCC-07⁴	-----	-----	OCC-25⁴	-----	-----
OCC-08⁴	-----	-----	OCC-26⁵	-----	-----
OCC 09	49,4274	0,3488	OCC 27	98,4862	1,0172
OCC-10⁴	-----	-----	OCC 28	84,5381	0,4383
OCC-11⁴	-----	-----	OCC 29	65,0339	0,2321
OCC-12⁴	-----	-----	OCC 30	10,3458	0,0767
OCC-13⁴	-----	-----	OCC 31	39,9015	0,1600
OCC-14⁴	-----	-----	OCC 32	63,3950	0,5803
OCC-15⁴	-----	-----	OCC 33	65,1592	0,2629
OCC-16⁴	-----	-----	OCC-34⁴	-----	-----
OCC-17⁴	-----	-----	OCC 35	43,0137	0,1083
OCC 18	30,2103	0,2553			

A Figura 19 apresenta a distribuição dos índices de acidez.

⁴ Amostras sem valor de índice de acidez por não possuírem volume suficiente para análise.

⁵ A amostra OCC-26 possuía uma coloração forte (marrom) e por isso, não foi possível determinar seu índice de acidez corretamente.

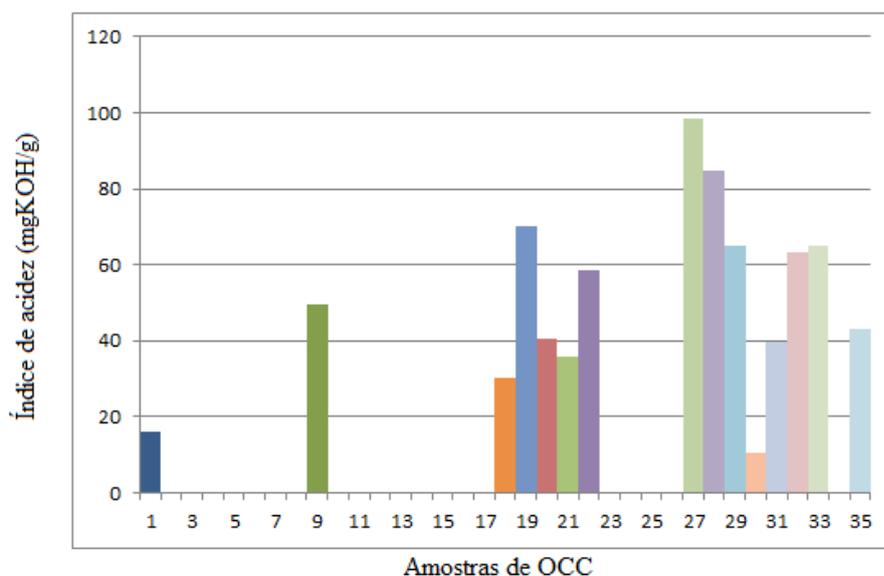


Figura 19: Índice de acidez médio para as amostras de OCC.

De acordo com o trabalho de Vasconcelos e Godinho (2002), admite-se que amostras autênticas de óleo de copaíba apresentem valores para o índice de acidez dentro da faixa de 80 a 90 miligramas de KOH por grama de óleo. As amostras que apresentam esse índice abaixo de 80, são provavelmente amostras adulteradas [6]. Entretanto, pela grande variabilidade das espécies, sazonalidade, características do solo e de ataques de outros seres à árvore, esses valores podem aumentar ou diminuir. Outro fator importante a ser considerado é que a adulteração, com óleo de soja por exemplo, abaixa o índice de acidez, mas há outros adulterantes que podem aumentar esse valor afim de mascarar a adulteração.

Os dados obtidos através do CG-EM nos mostram que apesar da relação entre índice de acidez e adulterações não ser exatamente a descrita por Vasconcelos e Godinho (2002), é possível afirmar que índices de acidez muito baixos são fortes indicativos de adulterações grosseiras.

MÉTODOS DE SEPARAÇÃO

5.5 Resultados de destilação por arraste de vapor

Durante a separação por arraste a vapor, notou-se que as pastilhas não ficavam uniformemente distribuídas dentro do balão, tendendo a ficarem juntas em um único lado do balão. Sugeriu-se então utilizar mais pastilhas (seis) para que dessa forma, elas se distribuíssem melhor e aumentasse o rendimento do método.

A utilização de seis pastilhas apresentou uma melhor separação entre os grupos diterpênicos e sesquiterpênicos, acarretando um aumento de rendimento médio nas três amostras de óleos utilizadas.

A diferença em termos de translucidez das amostras com três e seis pastilhas foi visível, visto que com seis pastilhas a ebulição estava mais distribuída e maior parte volátil (sesquiterpênica) foi arrastada pelo vapor de água. Além disso, a turbidez na amostra pode ter sido causada também pelo aprisionamento de água dentro da fração resinosa, visto que maior quantidade de vapor de água atravessou o óleo bruto.



**Figura 20: À esquerda, amostra OCC-15 hidrodestilada com 3 pastilhas;
À direita a mesma amostra hidrodestilada com 6.**

O óleo e a água formam uma mistura heterogênea, são dois líquidos imiscíveis, sendo que óleo fica “flutuando” na água por possuir densidade inferior. Após atingir uma temperatura próxima aos 100°C, a água começa a entrar em ebulição e o vapor atravessa ca

camada de óleo e arrasta os componentes com quem possui maior afinidade. Na tabela 6, segue os dados de rendimento de cada amostra com 3 pastilhas de ebulição (3P) e com 6 pastilhas (6P).

Tabela 6: Dados de hidrodestilação das amostras de OCC com 3 e 6 pastilhas de ebulição.

Amostra	Rendimento médio Parte resinosa (%)	Desvio Padrão	Rendimento médio parte Volátil (%)	Desvio Padrão	Soma dos Rendimentos (%)
OCC 21-3P	65,8762	2,1622	4,7515	0,5638	70,6277
OCC 21-6P	80,4657	0,5111	4,5303	4,9470	84,9961
OCC 15-3P	69,8085	8,6839	1,6258	0,8707	71,4343
OCC 15-6P	69,7697	0,0266	3,4232	0,0723	73,1929

Durante a hidrodestilação, foi necessário trocar a chapa de aquecimento e o aparato Dean Stark. A chapa de aquecimento com defeito e a troca de vidraria podem ter contribuído para a perda de massa das amostras para o ambiente. As amostras hidrodestiladas foram levadas para análise de CG-EM. A Figura 21 apresenta o espectro da fração resinosa do OCC-15 hidrodestilada 6 pastilhas e a Figura 22 mostra o espectro do OCC-15 bruto.

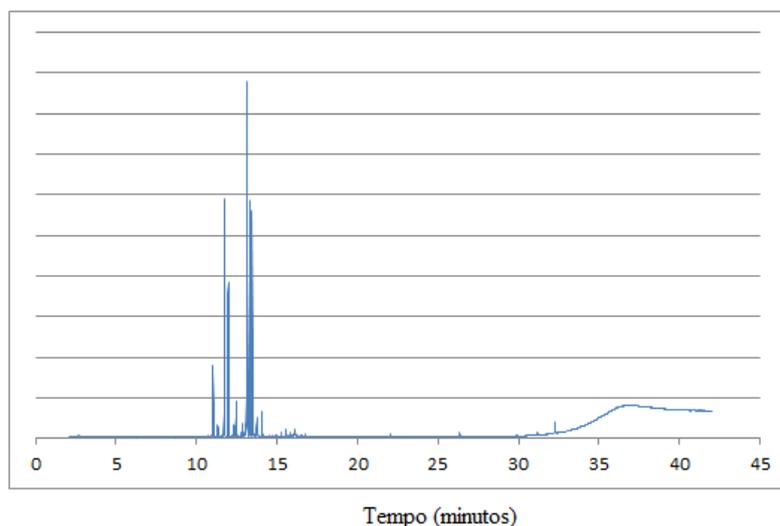


Figura 21: Espectro de CG-EM da amostra OCC-15 bruta.

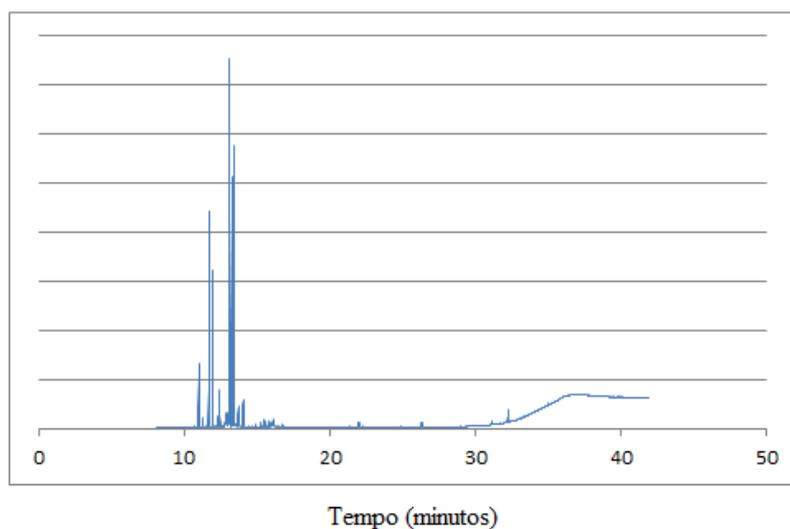


Figura 22: Espectro de CG-EM da fração resinosa do OCC-15 após hidrodestilação com 6 pastilhas de ebulição.

Ao se comparar os dois espectros, é possível ver que apesar da separação dos grupos de compostos ter acontecido, ainda há uma quantidade significativa de sesquiterpenos contidos na fração diterpênica do óleo. O método utilizado para a introdução da amostra no CG-EM não nos permite ver a fração diterpênica, apesar dela estar presente pois os compostos dessa região sofrem uma reação de saponificação.

5.6 Resultados cromatografia em coluna

O método de impregnação da sílica com KOH utilizada na cromatografia em coluna, é mais simples que alguns métodos encontrados na literatura. É um método mais rápido e dispensa o uso de n-hexano, a eluição também utiliza uma menor quantidade de solventes.

Durante os experimentos realizados com a coluna cromatográfica, notou-se uma grande afinidade dos compostos das amostras mais fluidas (maior quantidade de sesquiterpenos) com o diclorometano. Compostos mais viscosos (maior quantidade de diterpenos) tiveram afinidade maior com o metanol acidificado devido a sua maior interação intermolecular com a fase móvel.

Na Tabela 7 estão listados os resultados de rendimento em massa obtidos com cada eluente.

Tabela 7: Dados de massa e rendimento obtidos através da cromatografia em coluna para as amostra de OCC.

Amostra	Média do peso de óleo (DCI) (g)	Desvio Padrão	Média do peso de óleo (MeOH) (g)	Desvio Padrão	Fração média retida em DCI (%)	Fração média retida em MeOH (%)	Rendimento (%)
OCC-15	2,2713	0,1946	4,0859	0,1968	45,0091	80,9615	125,9707
OCC-21	4,1366	0,4764	2,1464	0,0427	82,5336	42,8246	125,3582

A amostra OCC-21 (19.9338 ± 0.1035) possui uma viscosidade menor que a OCC-15 (não medida por possuir viscosidade muito elevada). Isso é um indicador de que a primeira amostra possui uma proporção de compostos sesquiterpênicos (voláteis) que a segunda. Devido a este fato, é de se esperar que para a amostra menos viscosa, a massa retida em diclorometano seja maior que a da amostra mais viscosa. O caminho inverso também é verdadeiro, a amostra de maior viscosidade possui em sua composição uma maior proporção de diterpenos, logo, a maior parte de sua massa estará retida na fração metanólica.

Observou-se que nos dois óleos utilizados na cromatografia em coluna, houve um ganho grande de massa (cerca de 25%). Afim de averiguar a razão deste fenômeno, a fração metanólica foi lavada com água destilada. Após a dissolução completa da amostra, pingou-se 3 gotas de uma solução de fenolftaleína 1%. A solução contendo a amostra dissolvida tornou-se rosa (Figura 23), indicando que esse acréscimo de 25% de massa é provavelmente proveniente do KOH que estava impregnado na sílica e foi carregado junto com o metanol. O processo de lavagem com água destilada pode ser aplicado após o método de separação.

Após a separação dos componentes, cada amostra foi levada para o CG-EM para a análise qualitativa do método de separação. A Figura 24 e 25 apresentam os espectros obtidos.



Figura 23. Amostra diluída em água destilada com indicador fenolftaleína

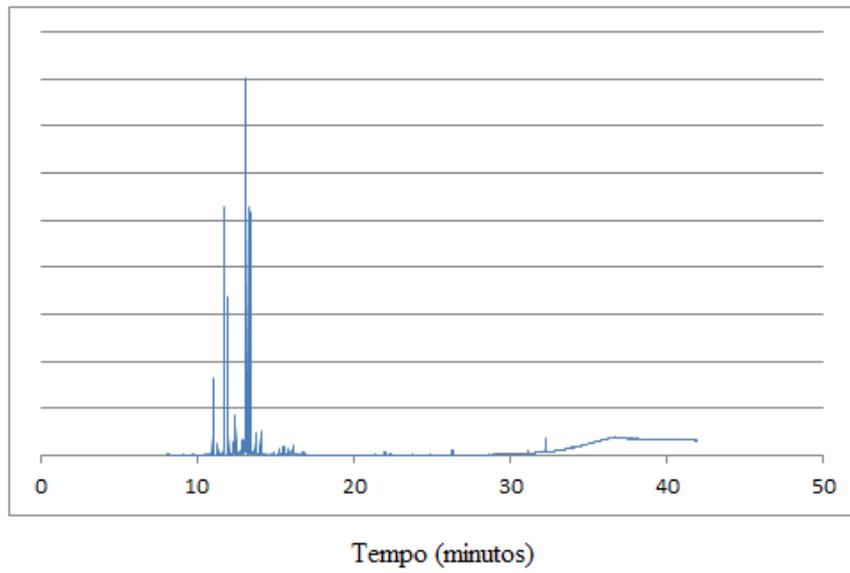


Figura 24: Espectro de CG-EM da fração contida em DCl da amostra OCC-15.

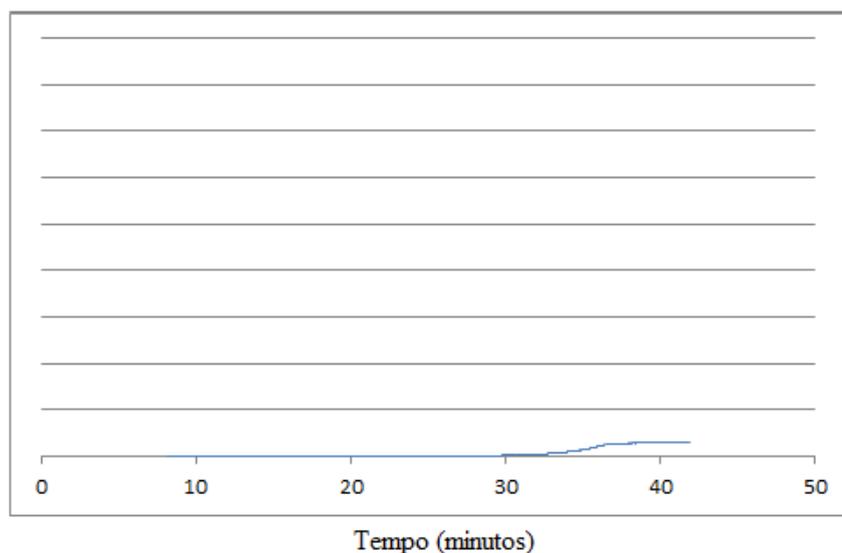


Figura 25: Espectro de CG-EM da fração contida em MeOH da amostra OCC-15

O motivo por não haver nenhum pico na região sesquiterpênica (compreendida entre 10 e 20 minutos) indica que não há a presença destes compostos na fração metanólica, enquanto que a fração contida no diclorometano possui esta região intacta. Este fato nos mostra que a separação desses dois grupos de compostos efetiva.

5.7 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Todas as amostras brutas de OC foram analisadas pelo CG-EM afim de se verificar a existência de adulterações (no caso, ácidos graxos). Na Tabela 9 pode-se conferir os valores aproximados de adulterantes em (% v/v).

Ao confrontar os dados obtidos através do CG-EM com os parâmetros físico-químicos, podemos dizer que ambos são importantes para a identificação de adulterações nos OC. A Tabela 10 compara alguns parâmetros físico-químicos do OCC-30 com o obtido pelo CG-EM.

Tabela 9: Valores aproximados de adulterantes em (%v/v).

Amostra	Teor de adulteração (%v/v)	Amostra	Teor de adulteração (%v/v)
OCC-01	3,0	OCC 19	0,0
OCC 02	40,0	OCC 20	15,0
OCC 03		OCC 21	3,0
OCC 04	25,0	OCC 22	0,0
OCC 05	0,5	OCC 23	30,0
OCC 06	0,0	OCC 24	25,0
OCC 07	40,0	OCC 25	30,0
OCC 08	15,0	OCC 26	0,0
OCC 09	0,0	OCC 27	0,0
OCC 10	0,5	OCC 28	0,0
OCC 11	25,0	OCC 29	0,0
OCC 12	1,5	OCC 30	35,0
OCC 13	50	OCC 31	0,0
OCC 14	0,0	OCC 32	0,0
OCC 15	0,0	OCC 33	0,0
OCC 16	0,0	OCC 34	0,5
OCC 17	30,0	OCC 35	0,0
OCC 18	0,0	-----	-----

Tabela 10: Dados de teor de adulterante, índice de refração, acidez

Amostra	Teor de adulterante (%v/v)	Índice de refração obtido	Índice de refração médio	Índice de acidez obtido	Índice de acidez médio
OCC-30	35,0	1,4793	1,5027	10,3458	51.9933

O índice de refração, já aponta uma possível adulteração, visto que o valor encontrado está muito afastado da média. O índice de acidez é cerca de 5x menor que a média e isso é um forte indicador de a amostra está adulterada muito provavelmente por óleo de soja. Os resultados do CG-EM só confirmam o que os parâmetros físico-químicos apontam.

Na Figura 26, é possível ver picos bastante pronunciados de adulteração.

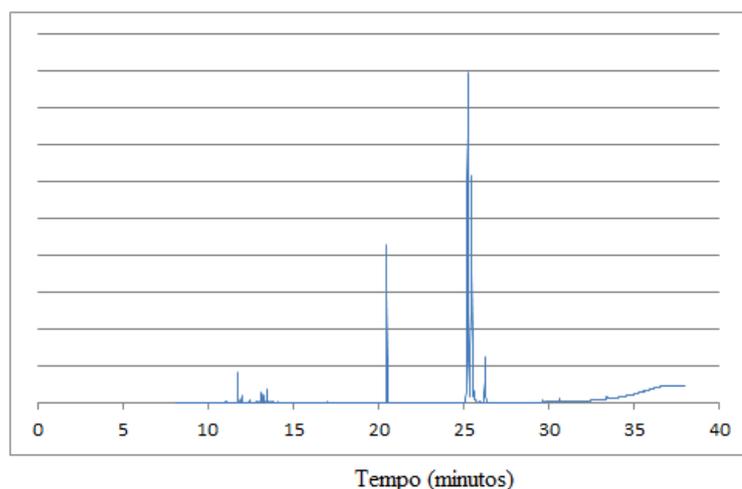


Figura 26: Espectro de CG-EM da amostra OCC-30

Aos 25 minutos de análise, aproximadamente, picos de adulterantes (ácidos graxos) aparecem. Nesta região, como já foi dito neste trabalho, não deveria aparecer nenhum pico, visto que os ácidos diterpênicos sofrem uma reação de saponificação. Este espectro apenas ilustra a presença do adulterante.

5.8 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO

Apesar do metanol e do n-hexano serem imiscíveis, alguns óleos (OCC-15, por exemplo), atuaram como um elo de ligação entre o metanol e o n-hexano permanecendo então apenas uma fase. Entretanto, outras amostras não possuíram este comportamento (OCC-09 e OCC-21) e puderam ser separadas através deste método com sucesso. Utilizando o funil de separação, as frações contidas no metanol e no n-hexano (o metanol por ser mais denso que o n-hexano, ficou na parte de baixo do funil) foram rotoevaporadas e suas massas medidas em uma balança de precisão analítica. A Tabela 11 apresenta os valores de rendimento da separação líquido-líquido.

Tabela 11: Valores de rendimento da separação líquido-líquido

Amostra	Rendimento médio (fração metanólica em %)	Desvio Padrão	Rendimento médio (fração n-hexano em %)	Desvio Padrão	Rendimento total médio (%)
OCC-09	68,4281	10,8382	30,9382	11,9243	99,3663
OCC-21	62,8794	23,6625	35,5300	25,7311	98,4095

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O trabalho realizado mostrou que os parâmetros físico-químicos são ferramentas analíticas importantes para a regulamentação e comprovação da autenticidade de materiais florestais, como o óleo de copaíba. Além disso, parâmetros como a viscosidade e densidade possuem fundamental importância para logística, como também para o planejamento de operações dentro de uma indústria química.

Sabemos que as amostras de óleo de copaíba são provenientes de diversas regiões do Brasil e de várias espécies diferentes. Isso acarreta proporções de sesquiterpenos e diterpenos diferentes entre elas. Este fato dificulta a criação de métodos e técnicas para controle e autenticidade dos óleos de copaíba. Os resultados obtidos através dos parâmetros físico-químicos não podem ser estritamente rígidos sem levar em consideração estes fatores.

A cromatografia em coluna se mostrou mais rápida e eficiente que a hidrodestilação. Embora o uso de mais pastilhas de ebulição tenha aumentado o rendimento da separação na hidrodestilação, não houve uma separação completa dos grupos de compostos sesquiterpênicos e diterpênicos pois compostos voláteis ainda estão presentes nas frações resinosas do óleo.

Os espectros obtidos da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas mostrou que a separação pelo método da cromatografia em coluna é mais eficiente e seletivo que através da hidrodestilação. Além disso, a sílica e os solventes gastos durante a cromatografia podem ser recuperados e reutilizados sem maiores problemas.

Deve-se levar em consideração também, o custo envolvido nestes métodos. Os gastos envolvidos na cromatografia são inferiores aos da hidrodestilação, que ainda apresentou uma perda significativa de massa durante a técnica de separação.

O método de separação líquido-líquido não se mostrou eficiente visto que por motivo desconhecido, algumas amostras de óleo (tanto autênticas quanto adulteradas) se apresentavam em uma única fase, impedindo assim a separação.

Pensando-se em uma aplicação industrial, não é conveniente uma imprevisibilidade do comportamento do material utilizado. Este fenômeno pode ser objeto de estudos futuros.

Os resultados apresentados pelas técnicas de separação, como a cromatografia em coluna e a hidrodestilação, mostram um promissor campo de estudo para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de caracterização e controle dos produtos não-madeireiros.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M. W. Biavatti, D. Dossin, F. C. Deschamps e M. d. P. Lima, "Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para seu controle de qualidade," *Braz. J. Pharmacogn.*, vol. 16, n. 2, pp. 230-235, 2006.
- [2] V. F. e. P. A. C. Veiga Jr., "O GÊNERO *Copaifera Lagngsdorffii* Quim. Nova. 2, 2002, Vol. 25, pp. 273-286.," *Quim. Nova.*, pp. 273-286, 2 2002, Vol. 25, pp. 273-286..
- [3] M. R. R. e. a. e. a. Tappin, "ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA PARA A PADRONIZAÇÃO DO ÓLEO DE COPAÍBA POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO. 2004, Vol. 27, 2, pp. 236-240.," *Quim. Nova*, pp. Vol. 27 236-240, 2004.
- [4] V. F. P. M. L. e. P. A. C. Veiga Jr., "CONTROLE DE AUTENTICIDADE DE ÓLEOS DE COPAÍBA COMERCIAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO 1997, Vol. 20, 6, pp. 612-615.," *Quim. Nova*, pp. Vol. 20, 612-615, 1997.
- [5] G. B. Cascon V, "Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne," *Phytochemistry* 55, pp. 773-778, 2000.
- [6] A. F. F. G. O. E. S. Vasconcelos, "Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaiba.," pp. 1057-1060, No. 6B Vol 25 2002.
- [7] K. d. S. Y. M. e. S. V. V. Barbosa, "Detection of adulterated copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oil-resins by refractive index and thin layer chromatography.," *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Jan/Mar 2009.
- [8] V. e. P. A. Veiga Jr., "Utilização do Monitoramento Seletivo de Íons como Ferramenta para a Detecção de Adulterações em Óleos de Copaíba," *Revista Fitos*, pp. 52-55, Vol 1 2005.
- [9] D. D. F. C. D. M. d. P. L. Maique W. Biavatti, "Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade.," *Rev. Bras. de Farmacognosia.*, Abril/Junho 2006.
- [10] F. M. M. e. M. M. Pieri, "Óleo de coapíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. 2009, Vol. 11, 4, pp. 465-472.," *Rev. Bras. Pl. Med*, pp. Vol. 11, 465-472, 2009.
- [11] A. G. e. a. e. a. Barreto Júnior, "Cromatografia de troca-ionica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). 2005, Vol. 28, 4, pp. 719-722.," *Quim. Nova*, pp. 719-722, 4 Vol. 28 2005.
- [12] L. SUGIMOTO, "Óleo de copaíba é testado em 9 tipos de câncer," UNICAMP, 19 maio 2003. [Online]. Available:

http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/maio2003/ju213pg5a.html. [Acesso em 22 maio 2017].

- [13] “Dossiê Óleos,” *FOOD INGREDIENTS BRASIL*, vol. 31, pp. 41-43, 2014.
- [14] S. C. M. O. e S. V., “Farmacognosia: da planta ao medicamento.,” *Editora da UFSC*, pp. 387-415, 2000.
- [15] J. LANGENHEIM, “Plants resins: chemistry, evolution, ecology, and,” *Text book. Cambridge, UK*, p. 29, 2003.
- [16] A. J. C., “Estudos silviculturais de uma população natural de Copaifera HAYNE Leguminosae, na Amazônia Central,” *Acta Amazonica*, pp. 78-82, Vol 12 1982.
- [17] C. d. S. M. M. C. F. d. L. F. d. V. J. D. P. R. e. C. R. C. Ederly Santos Silva, “Análise físico-química do óleo-resina e variabilidade genética,” *Pesq. agropec. bras., Brasília, v.47, n.11*, pp. 1621-1628, novembro 2012.
- [18] E. P. Ribeiro e E. A. G. Seravalli, “Química de Alimentos,” 2004, p. 194.
- [19] E. Moretto e R. FETT, “Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos,” São Paulo, Livraria Varela, 1998, p. 150.
- [20] E. Moretto e R. Fett, “Óleos e Gorduras Vegetais (Processamento e Análises), 1989, p. 142.,” *Editora da UFSC: Florianópolis*, p. 142, 1989.
- [21] E. Angelucci, I. R. Carvalho, N. R. P. Carvalho, B. I. Figueiredo, B. M. D. Mantovani e M. R. Moraes, “Análise química de alimentos,” em *manual técnico*, Campinas - SP, 1987, p. 123.
- [22] D. R. LIDE, *Handbook of Chemistry and Physics, 73ª Ed*, Florida: CRC Press Inc., Boca Raton, 1992.
- [23] H. M. Cecchi, “Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2ª Ed,” Campinas, SP, Editora da UNICAMP, 2003, p. 207.
- [24] J. Elias, “O labirinto científico,” 18 abril 2011. [Online]. Available: <http://olabirintocientifico.blogspot.com.br/2011/04/indigenas-e-salva-vidas.html>. [Acesso em 05 junho 2017].
- [25] F. White, “Mecânica dos Fluidos, 6. ed.,” Porto Alegre/RS, AMGH, 2011, p. 37.
- [26] J. D. Alvarado, “Propriedades físicas de frutas. IV: Difusividad y conductividad térmica efectiva de pulpas,” *Latin American Applied Research, Ambato*, pp. 41-47, n.1 v. 24 2001.
- [27] A. A. Granjeiro, A. J. M. Queiroz, R. M. F. Figueirêdo e M. E. R. M. C. Mata, “Viscosidades de polpas concentradas de figo-da-Índia. Pelotas,” *Revista Brasileira de Agrociência*, p. 6, 2007.
- [28] M. V. Possa e J. R. B. d. L. Possa, “Comportamento reológico de polpas de minério (Série

- Tecnologia Mineral, 77).” Rio de Janeiro, CETEM/MCT, 2000, p. 37.
- [29] Y. Cengel e A. Ghajar, “Transferência de calor e massa,” em 4. ed, Porto Alegre - RS, AMGH, 2012, pp. 521-522.
- [30] M. Koketsu e S. L. Gonçalves., “Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor,” p. 17, 1991.
- [31] C. H. e. Collins, “Introdução a mão métodos cromatogrtodos cromatográáficos 6ªed.,” Campinas, Unicamp, 1995.
- [32] J. K. e. a. Lloyd Snyder, Introduction to Modern Liquid Chromatography, New York, 2010.
- [33] R. C. D. J. D. B. E. M. J. K. T. ARTHUR I. VOGEL - J. MENDHAM, ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA, Editora LTC, 6ª edição, 2002.
- [34] D. L. Pavia, G. M. Lampan, G. S. Kriz e J. R. Vyvyan., “Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana.,” Cengage Learning, 2012.
- [35] “Purification by Flash Column Chromatography open course,” Massachusetts Institute of Technology – MIT, [Online]. Available: <https://ocw.mit.edu/courses/chemistry/5-301-chemistry-laboratory-techniques-january-iap-2012/labs/column-chromatography/>. [Acesso em 03 março 2017].
- [36] F. Augusto, “Cromatografia a Gás: Curso em Diapositivos. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Julho de 2007.”.
- [37] D. Blackadder e R. Nedderman, Manual de Operações Unitárias. Tradução de Luiz Roberto de Godoi, São Paulo: Vidal Hemus Editora, 1982.
- [38] A. J. L. Pombeio, Técnicas e Operações Unitárias em Química Laboratorial. 2ª ed., Lisboa/Portuga: Fundação Calouste Gulbenkian, 1991..
- [39] F. S. V. e. V. F. V. Jr., “Utilização de cromatografia por troca iônica com sílica gel impregnada.,” *Sociedade Brasileira de Química (SBQ)*, pp. 1-2, 2011.
- [40] J. K. B. João Paulo B. Sousa, “Copaifera langsdorffii: Estudo fitoquímico, validação de métodos cromatográficos e análise sazonal,” 2011.
- [41] M. Costa, M. A. Tanaka, P. M. Imamura e A. Marsaioli, *Phytochemistry*, 50-117, 1999.
- [42] M. Correa Pio, “Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas,” Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1931, p. 371.
- [43] G. Champetier e L. Monnerie, *Introducion a la Química Molecular*, Madrid: Espasa- Calpe S.A, 1973.
- [44] “Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Citado em: 14 de Fevereiro de 2017.],” IBGE.

Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA, IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA 2014. [Online]. Available: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pevs/default.asp?o=30&i=P..> [Acesso em 14 Fevereiro 2017].

[45] A. J. C., “Estudos silviculturais de uma população natural de Copaifera,” 1982.

8. APÊNDICE

Abaixo um exemplo de como o valor de viscosidade foi calculado:

Exemplo:

OCC-01 levou 214,28 segundos para escoar de um ponto a outro do viscosímetro de 150. Utilizando-se da constante de conversão fornecida pelo fabricante:

$$\text{Constante} = 0,03755$$

$$\text{Viscosidade} = t \times 0,03755$$

$$\text{Viscosidade} = 214,28 \times 0,03755 = 8,0462 \text{ centistokes.}$$

Para as amostras que possuíam altos valores de viscosidade e foram medidos no viscosímetro de 200, o cálculo é análogo ao da equação acima. Apenas o valor da constante é alterado de 0,03755 para 0,0955.