

Q. No 23

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabalho de Licenciatura

TEMA: Estudo dos Oleos Essenciais de Origem Vegetal

Subtema: Oleo Essencial de *E. camaldulensis*



Autor: Arnaldo Aménosse Cumbane

Supervisor: dr. Feliskerto Pagula

Maputo, Agosto de 1995



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TRABALHO DE LICENCIATURA

TEMA: Estudo dos Óleos Essenciais de Origem Vegetal

Subtema: Óleo Essencial de *E. camaldulensis*

U. E. M. DEPARTAMENTO DE QUÍMICA	
BIBLIOTECA	
R. E.....	09. TL.
DATA.....	13. 07. 106.
AQUISIÇÃO.....	0. esta.
COTA.....	

Autor: Arnaldo Amenosse Cumbane

Supervisor: dr. Felisberto Pagula

Maputo, aos 23 de Agosto de 1995

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que directa ou indirectamente contribuíram para a realização do trabalho incluindo a elaboração e publicação deste relatório final.

Agradecimentos especiais são dirigidos aos herbários do Instituto Nacional de Investigação Agronómica, INIA, e do Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane, nas pessoas dos seus responsáveis, por terem prestado auxílio no levantamento das espécies ricas em óleos essenciais; ao Eng^o Eurico da Cruz, do Ministério da Agricultura, por ter cedido um inventário florestal actualizado do Projecto F.O-2, que permitiu o planeamento da amostragem da espécie seleccionada; à Eng^a Teresa, do Centro de Experimentação Florestal, CEF, do INIA, por ter amavelmente disponibilizado transporte e equipe de técnicos florestais que fizeram a localização e identificação do *Eucalyptus camaldulensis* e colaboraram nas operações de amostragem. Finalmente, gostaria também de agradecer ao dr. Felisberto Pagula, pelo cumprimento inequívoco da sua tarefa como supervisor; à toda a família, em particular a minha esposa e irmãos, que me incentivaram enquanto estudei e ajudaram as crianças em momentos difíceis.

O autor

DECLARAÇÃO SOB PALAVRA DE HONRA

O presente trabalho de licenciatura foi elaborado pelo autor com base nos recursos a que ao longo do texto se fazem referência.

O autor

Arnaldo A. Cumbane

(Arnaldo Amenosse Cumbane)

Maputo, aos 23 de Agosto de 1995

RESUMO

O presente trabalho trata do estudo dos óleos essenciais de origem vegetal. Para o efeito, os objectivos preconizados foram o levantamento de plantas ricas em óleos essenciais; selecção daquelas que pelo seu valor comercial e/ou industrial têm constituído centro de atenção e que apresentam bons rendimentos; realização de estudos sobre processos de extracção dos óleos essenciais e padronização de métodos de avaliação do seu conteúdo nas plantas; ensaio das propriedades medicinais destes óleos e estudo de possibilidades da sua aplicação na indústria local. Do levantamento feito seleccionou-se para o estudo a espécie *E. camaldulensis*, da família *Myrtaceae*, por reunir os requisitos previamente estabelecidos.

De Fevereiro a Junho de 1995, foram colhidas ao acaso, em sacos plásticos, 200 amostras de follhas novas de *Eucalyptus camaldulensis* em quatro eucaliptais com idades de 2, 5, 7 e 11 anos. A colheita realizou-se em Michafutene, nas plantações pertencentes ao projecto F.O-2, do INIA.

Determinaram-se experimentalmente o tempo óptimo de destilação, a temperatura óptima da água de refrigeração bem como o rendimento, usando a destilação por arraste com vapor de água num aparelho do tipo **CLEVINGER**; determinou-se também o índice de refração do óleo obtido. O método empregue para o índice de refração é o recomendado pela "**International Organization for Standardization**", **ISO**.

Das amostras analisadas verificou-se que o tempo médio de destilação das folhas de *E. camaldulensis* é de 55 minutos. Os rendimentos observados foram de $0,97 \pm 0,10$, $1,09 \pm 0,05$, $1,26 \pm 0,08$ e $1,28 \pm 0,05$ para as árvores com 2, 5, 7 e 11 anos respectivamente. O valor médio do índice de refração foi de 1,4656.

Os resultados obtidos permitem concluir que o tempo necessário para que todo o óleo essencial esteja completamente extraído das folhas de *E. camaldulensis* usando a destilação por arraste com vapor de água pelo aparelho do tipo Clevenger é de 55 minutos. A temperatura de refrigeração (10 a 25°C) não produz variação apreciável sobre o rendimento do óleo essencial. Segundo a ANOVA ("**ANALYSIS OF VARIANCE**"), existe uma diferença significativa entre os quatro valores médios do rendimento, notando-se aumento deste com o aumento da idade. É de salientar porém a possibilidade de o factor idade interagir com outros e juntos conduzirem às diferenças observadas.

ÍNDICE

Agradecimentos	ii
Declaração sob palavra de honra	iii
Resumo	iv
Índice	v

I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Introdução	1
1.1. Aspectos gerais	1
1.2. Óleos Essenciais de Origem Vegetal	2
Aplicações Medicinais	2
Efeitos Secundários e Toxicidade	3
1.2.1. Terpenos	3
1.2.1.1. Mono- e sesquiterpenóides	5
1.3. Objectivos do Trabalho	8
2. Levantamento de Plantas ricas em Óleos Essenciais	9
3. Selecção de Plantas a Estudar	11
3.1. Género Eucalyptus	11
Usos	11
3.1.1. Eucalyptus camaldulensis	12
Ocorrência Natural	12
Características e Usos	12
3.1.1.1. A espécie em Moçambique	13

4. Colheita de Amostras e Obtenção de Óleos Essenciais	
4.1. Colheita de Amostras	14
4.2. Obtenção de Óleos Essenciais	14
4.2.1. Métodos	14
4.2.1.1. Destilação por Arraste com Vapôr de Água	14
Aparelhos Extractores dos Óleos Essenciais	14
4.2.1.2. Extracção	15
4.2.1.3. Adsorsão e Expressão	18
	18
5. Refractometria e Índice de Refracção	
5.1. Refractómetro	19
5.1.1. Constituição e Funcionamento	19
5.1.2. Aplicações	20
	22

II - PARTE EXPERIMENTAL

1. Materiais e Métodos	23
1.1. Amostragem	23
2. Extracção e "Estudo" do Óleo Essencial	23
2.1. Técnica	24
2.1.1. Tempo Óptimo de Extracção	24
2.1.2. Temperatura Óptima da Água de Refrigeração	25
2.1.3. Índice de Refracção	25
3. Resultados Experimentais	26
3.1. Características Organolépticas do Óleo Obtido	26
3.2. Rendimento	27
3.2.1. Tratamento Estatístico das Médias do Rendimento	31
3.2.1.1. Análise de Variância - ANOVA	31
3.2.1.1. Esclarecimento da Diferença Observada	32

3.3. Tempo Ótimo de Extração	33
3.4. Temperatura Ótima da Água de Refrigeração	34
3.5. Índice de Refracção	35
4. Discussão dos Resultados Experimentais	36
4.1. Rendimento	36
4.2. Tempo Ótimo de Destilação	36
4.3. Temperatura Ótima da Água de Refrigeração	37
5. Conclusões	38
5.1. Rendimento	38
5.2. Tempo Ótimo de Destilação	38
5.3. Temperatura Ótima da Água de Refrigeração	38
5.4. Índice de Refracção	39
6. Limitações e Recomendações	40
6.1. Comentários	40
Bibliografia	42

ANEXOS

Fórmulas de alguns constituintes dos Óleos Essenciais	A
Planta Topográfica - Distribuição de Espécies de Eucalyptus por Talhões	B
Testes Estatísticos	C
Dicionário de Alguns Termos Usados no Texto	F

I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS

Tal como noutras regiões geográficas do mundo, existem em Moçambique, ainda que não sejam em elevadas quantidades, árvores, arbustos, ervas e cipós, que muito podem contribuir de diversas formas para o modo de vida das populações. Infelizmente, trabalhos já realizados, referentes a flora vegetal do nosso país e seu aproveitamento são muito escassos senão mesmo inexistentes.

A importância das plantas como produtoras de compostos úteis ao homem é conhecida desde há séculos antes de Cristo e confirmada pela sua larga utilização em medicina, indústria de aromas ou fragrâncias, edulcorantes e agentes antimicrobianos [1]. Este trabalho, que não se afirma ser o primeiro do género em Moçambique, debruça-se sobre óleos essenciais produzidos por plantas. É um facto que o custo das plantas aromáticas tem estado sob ameaça dos produtos de síntese e industriais, em consequência do menor custo que estes últimos apresentam, contudo, actualmente assiste-se a uma tentativa de incentivar de novo a preferência pelos produtos naturais atendendo a que são estes que servem de padrão aos odores. A natureza, sendo magnânima ao oferecer-nos substâncias que impressionam os sentidos, como o gosto e o olfacto, justifica quão controverso seria se para definir os produtos odoríferos, não se recorre aos naturais. Esperançados ficamos na continuidade ou quiçá, na perenidade do estímulo e incentivo ao uso destas essências na melhor das situações (COSTA, 1975).

“Um número de pessoas, preocupado com os excessos das civilizações industriais e com as ameaças que esses excessos trazem à saúde física e moral, recorre a diferentes tipos de medicina naturais, principalmente às plantas medicinais, num movimento de reconciliação com a natureza (PELT, 1979). A preocupação com o estudo e utilização das plantas medicinais vem aumentando dia após dia. Tanto que em 1978, a Organização Mundial de Saúde, OMS, (Órgão das Nações Unidas), através de uma resolução de sua XXXI Assembleia Geral, determinou o início de uma programação mundial com o fim de avaliar e utilizar os métodos da medicina tradicional” (CAMPELO, 1983).

1.2. ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORIGEM VEGETAL

Sabe-se desde os tempos remotos que certas plantas produzem substâncias oleosas, umas não voláteis e pouco aromáticas como por exemplo o óleo de oliva, conhecidas por *óleos fixos*; outras, diferentes das primeiras por serem altamente voláteis e aromáticas, chamadas *óleos essenciais* e como já se referiu, constituem tema deste trabalho.

Por volta de 1592 já se conheciam cerca de sessenta diferentes óleos essenciais e a investigação da sua composição química foi iniciada no século IX [2]. Definem-se como **misturas complexas de compostos consistindo de álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas e terpenos**. São também definidos de **compostos de terpenos e derivados de fenilpropano** [3]. Os terpenos são provavelmente os constituintes mais importantes dos óleos essenciais e por isso nesta parte introdutória mereceram um desenvolvimento especial que não conduz a nenhum desvio apreciável em relação ao tema central.

Os constituintes odoríferos dos óleos essenciais são formados nos cloroplastos das folhas de plantas. Uma vez formados, combinam com a glicose resultando glicosídeos. Ao circularem por todas as partes da planta, os glicosídeos sofrem ataque enzimático nas flores, regenerando-se assim os óleos essenciais. A sua distribuição na planta é mais acentuada nas flores do que nos frutos, folhas, caule e raízes. Acredita-se que sejam substâncias de refúgio do metabolismo da planta e provavelmente desempenhem a função de atrair insectos de fertilização e repelir aqueles que lhe são prejudiciais. São usados na culinária, na perfumaria e na indústria farmacêutica (ÁFRICAN PHARMACOPOEA, Vol. 1, 1985).

a) Aplicações medicinais

A excreção dos óleos essenciais realiza-se através dos pulmões, pele e rins. Durante a excreção pelos bronquíolos, actuam como expectorantes. Quando inalados, tornam as secreções mais fluídas aliviando a congestão dos bronquíolos e podem ser usados para este fim em condições de bronquite crónica. Tomados depois das refeições, agem como carminativos e são usados para o alívio do desconforto gástrico e também para contrariar a acção gripante dos purgativos [4].

b) Efeitos secundários e Toxicidade

Quando ingeridos, os óleos voláteis como também são chamados os óleos essenciais, irritam a mucosa da boca e do tracto digestivo induzindo aumento de salivação. Aplicados na pele, possuem acção irritante e rubefaciente causando aumento da temperatura corporal seguido de uma anestesia local; por esta razão usam-se como contra-irritantes e estimulantes cutâneos no tratamento de situações inflamatórias crónicas e para aliviar a neuralgia e dores reumáticas. Casos de morte devidos à injeção de volumes variando de 3,5 a 21 ml foram reportados [4].

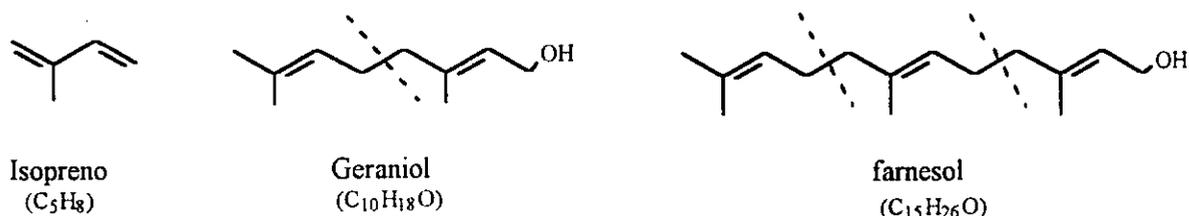
1.2.1. Terpenos

Os terpenos são compostos orgânicos possuindo uma estrutura básica que pode ser considerada como sendo formada por moléculas de *isopreno*. Embora o nome *terpenos* esteja ainda em uso, existe uma tendência geral de substituí-lo por *terpenóides*. Isto se deve ao facto de que como o sufixo "eno" designa apenas hidrocarbonetos insaturados, o nome terpeno não é apropriado para abranger os álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres, que são normalmente incluídos neste grupo de compostos em discussão. Os terpenóides naturais possuem a fórmula molecular $(C_5H_8)_n$ e o número de unidades de isopreno é usado como base de classificação conforme a tabela que a seguir se apresenta.

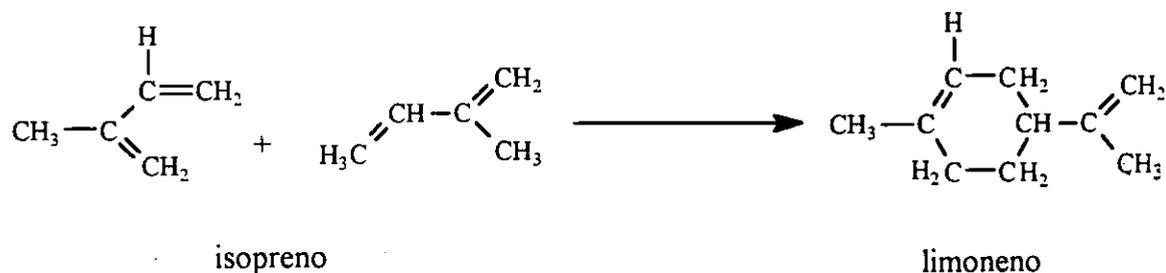
Tabela 1 - Classificação dos terpenóides

Unidades de isopreno	Fórmula molecular	Classe de terpenóides
2	$C_{10}H_{16}$	monoterpenóides
3	$C_{15}H_{24}$	sesquiterpenóides
4	$C_{20}H_{32}$	diterpenóides
5	$C_{25}H_{40}$	sesterterpenóides
6	$C_{30}H_{48}$	triterpenóides
8	$C_{40}H_{64}$	tetraterpenóides
>8	$(C_5H_8)_n > 8$	politerpenóides

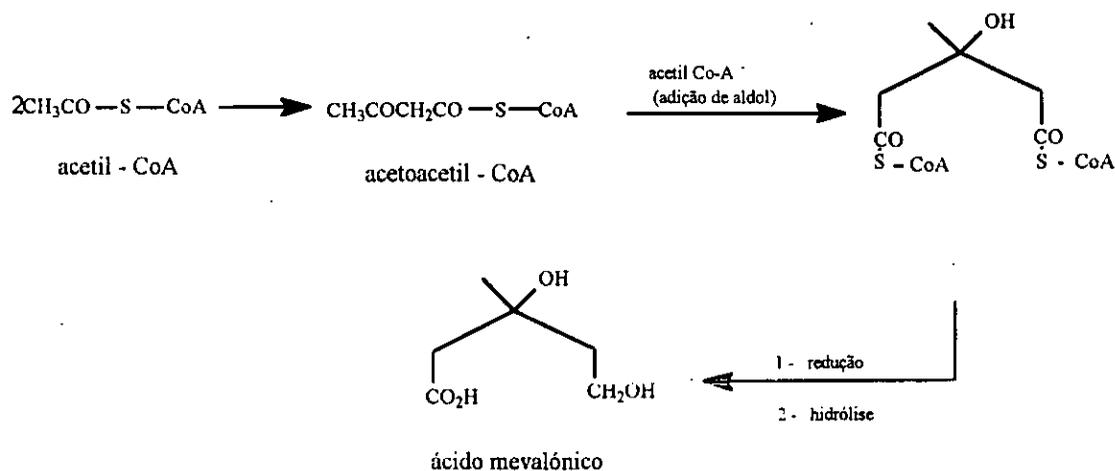
No anexo 1 mostram-se fórmulas de alguns constituintes dos óleos essenciais. Foi a constatação de existência da multiplicidade de unidades isoprenos que levou a que Wallach (1887) formulasse a chamada *regra de isopreno*, segundo a qual **todos os terpenos devem ser formalmente divisíveis em unidades de isopreno**. Abaixo se mostram alguns exemplos de terpenóides acíclicos que obedecem esta regra (as linhas tracejadas mostram a divisão em unidades de isopreno).



O exemplo mais simples de um terpenóide cíclico que também cumpre a regra de isopreno é o limoneno, um dímero do isopreno muito usado nos ingredientes de perfumes juntamente com a cânfora, citrônio, geraniol e terpineol.



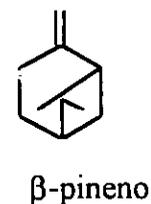
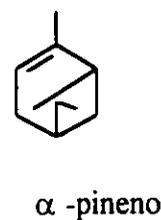
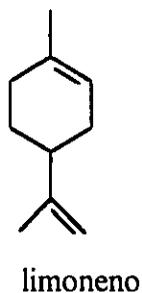
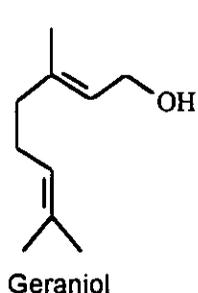
Ingold (1925) observou que os isoprenos nos terpenóides naturais estão unidos através de ligação cabeça-cáuda (sendo a cabeça a parte ramificada do isopreno). A divisibilidade em unidades de isopreno e a sua ligação cabeça-cáuda são chamadas de *regra especial de isopreno*. Existem poucos casos de compostos que não obedecem a regra de isopreno, sendo estes os derivados de terpenos “normais” por perda de um ou mais átomos de carbono ou por rearranjo de carboídes. Entretanto, a Natureza não usa o isopreno para a formação de terpenóides. Ele nunca foi encontrado como produto natural. O precursor de terpenóides é o ácido mevalônico, um composto que foi isolado em 1956 [2]. Este ácido é produzido a partir de acetil-CoA (acetato “activo”) pelo esquema geral mostrado na página a seguir.



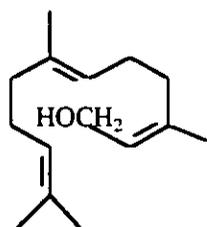
1.2.1.1. Mono- e sesquiterpenóides

Sob o ponto de vista químico os terpenóides constituintes dos óleos essenciais são os **mono- e sesquiterpenóides**. Estas classes possuem pontos de ebulição diferentes (monoterpenóides - 140 a 180°C, sesquiterpenóides - > 200°C). No que diz respeito aos monoterpenóides, subdividem-se em:

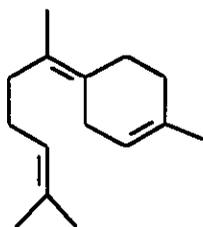
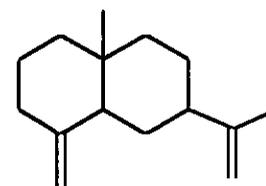
- **acíclicos** - possuem cadeia aberta (ex.: geraniol);
- **monocíclicos** - monoterpenóides com um ciclo (ex.: limoneno);
- **bicíclicos** - monoterpenóides com dois ciclos (ex.: α- e β- pineno).



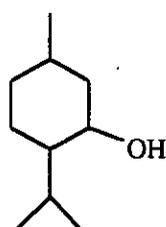
Os sesquiterpenóides também obedecem esta subdivisão sendo igualmente conhecidos por acíclicos os que apresentam cadeia aberta (ex.: farnesol); monocíclicos os que possuem um ciclo (ex.: γ-bisaboleno) e bicíclicos os de dois ciclos (β-selineno, carotol).



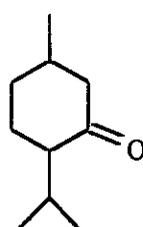
farnesol

 γ - bisaboleno β - selineno

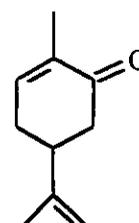
Dentro de cada um dos três grupos, os monoterpenóides podem ser **hidrocarbonetos insaturados simples** como é o caso do limoneno, ou possuírem **grupos funcionais** classificando-se em **álcoois** (ex.: mentol), **aldeídos** ou **cetonas** (ex.: mentona, carvona).



mentol

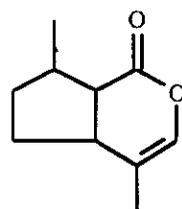


mentona



carvona

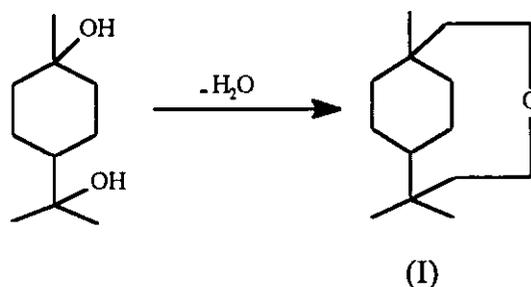
Incluídos nos monoterpenóides existem as **lactonas** (melhor conhecidas por **irridóides**) e **tropolonas**. Uma lactona monoterpênica típica é a **nepetalactona**, principal constituinte odorífero da *Nepeta cataria*, *Labiatae*, planta com uma atracção peculiar ao gato doméstico por causa do seu odor.



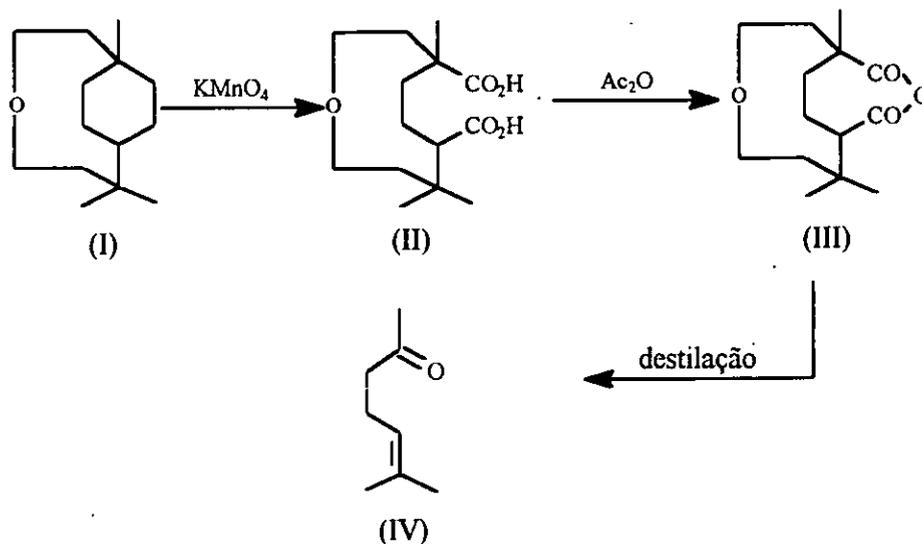
nepetalactona

Os monoterpenóides simples tendem ocorrer como constituintes maioritários dos óleos essenciais. Alguns ocorrem regularmente em conjunto no óleo extraído de folhas, principalmente o α - pineno, β - pineno, limoneno, Δ^3 - careno, e α - felandreno (as estruturas dos três últimos estão mostrados no anexo 1 juntamente com outros terpenóides). Os mais especializados encontram-se nas flores e sementes. Porém, como regra geral, independentemente da parte da planta, estas substâncias ocorrem sob forma de misturas complexas.

Certos monoterpenóides são típicos de determinados géneros vegetais. O cineol por exemplo, é um componente típico do óleo essencial de *Eucalyptus*, ocorrendo em concentrações elevadas comparadas com as dos restantes constituintes. Toma-se este terpenóide para definição da qualidade do óleo de *Eucalyptus*, que deve apresentar teor não inferior a 60 % (ISO, 1976). É isómero do α -terpineol, mas não possui nem grupo hidroxilo, nem ligação dupla. O átomo de oxigénio na molécula do cineol é inerte (não é atacado nem pelo sódio, nem pelos agentes normais de redução), o que sugere tratar-se de um oxigénio do tipo éter. O suporte material desta hipótese é o facto de que a desidratação da *cis*-1,8-terpina conduz à formação de 1,8-cineol (I) [5].



Outro suporte desta estrutura é fornecido pelo estudo dos produtos de oxidação (Wallach *et al.* 1888, 1890, 1892). Quando oxidado com o permanganato de potássio, o cineol transforma-se em ácido cineólico (II) e este, ao ser acetilado com o anidrido acético, forma anidrido cineólico (III). A destilação do anidrido cineólico à pressão atmosférica resulta o 6-metilhept-1-en-ona (IV) [5]. Estas reacções foram esquematicamente interpretadas por Wallach como a seguir se ilustra.



1.3. OBJECTIVOS DO TRABALHO

Com este trabalho pretende-se:

- fazer o levantamento de plantas ricas em óleos essenciais;
- seleccionar aquelas que pelo seu valor comercial e/ou industrial têm constituído centro de atenção e que apresentam bons rendimentos;
- realizar estudos sobre processos de extracção dos óleos essenciais e padronizar métodos de avaliação do seu conteúdo nas plantas;
- estudar as possibilidades da sua aplicação na indústria local.
- ensaiar as propriedades medicinais destes óleos e dos seus hidrolatos.



2. LEVANTAMENTO DE PLANTAS RICAS EM ÓLEOS ESSENCIAIS

Com base nos estudos realizados noutros países, procedeu-se ao registo de algumas espécies vegetais referidas como produtoras de óleos essenciais. Fez-se posteriormente o seu levantamento nos herbários do Instituto Nacional de Investigação Agronómica (INIA), e do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências, da Universidade Eduardo Mondlane, com vista a apurar a sua existência no território nacional. A maior parte das espécies procuradas não foram encontradas nos dois herbários; uma das razões da sua ausência prende-se com a possível falta de um trabalho suficientemente abrangente durante as poucas colheitas realizadas por aquelas instituições num território com uma extensão muito vasta, para além de se admitir a sua inexistência no nosso país. Não obstante este facto, levantaram-se outras espécies, desde que pertencessem ao mesmo género e família que os das procuradas, conhecidas como sendo produtoras de óleos essenciais. Estas espécies foram apresentadas neste trabalho sob forma de uma tabela e organizadas em **família, género, espécie procurada, espécie encontrada e local de colheita** - tabela 2.

Segundo [3], nas plantas particularmente ricas em óleos essenciais incluem-se as que pertencem às famílias **Compositae, Labiatae, Myrtaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae, e Umbelliferae**.

Tabela 2 - Levantamento de plantas ricas em óleos essenciais

Família	Género	Espécie procurada	Espécie encontrada	Local da colheita
Apiaceae	Foeniculum	<i>F. spp</i>	<i>F. vulgaris</i>	Chibuto
Myristicaceae	Myristica	<i>M. fragrans</i>	nenhuma	-
Lauraceae	Cinnamomum	<i>C. camphora</i>	nenhuma	-
		<i>C. zeylanicum</i>	nenhuma	-
Gramineae	Cymbopogon	<i>C. flexuosus</i>	<i>C. nardus</i>	P. Ouro, Goba
			<i>C. caesius</i>	Inhaca, Boane, Tete
			<i>C. giganteus</i>	Tete
			<i>C. plurinodis</i>	Gaza, Massingir
			<i>C. afroncordus</i>	Niassa, Unango
			<i>C. validus</i>	M. Libombos
Lamiaceae	Mentha	<i>M. spp</i>	<i>M. pulegium</i>	Maputo
	Thymus	<i>T. vulgaris</i>	nenhuma	-
Myrtaceae	Eucalyptus	<i>spp</i>	<i>E. leucoxylo</i>	Maputo, Namaacha
			<i>E. crebra</i>	Maputo, Namaacha
			<i>E. melliodora</i>	Namaacha
			<i>E. microcorys, cinera</i>	Namaacha
			<i>E. citriodora</i>	Maputo, Massingir
			<i>E. camaldulensis</i>	Zona Sul
			<i>E. teretecornis</i>	Zona Sul
			<i>E. saligna, grandis</i>	Zona Centro
Piperaceae	Piper	<i>P. cubeba</i>	<i>P. capense</i>	Manica, Sofala
			<i>P. umbellatum</i>	Manica
Rutaceae	Citrus	<i>C. aurantium</i>	nenhuma	-
Zingiberaceae	Zingiber	<i>Z. officinalis</i>	nenhuma	-

3. SELECÇÃO DE PLANTAS A ESTUDAR

Na selecção de espécies a serem estudadas, etapa que seguiu ao levantamento, tomou-se em consideração a importância que a planta possui no comércio e na indústria. Seguindo-se este critério, seleccionou-se o *Eucalyptus camaldulensis*.

3.1. GÉNERO *EUCALYPTUS*

O *Eucalyptus* é um género de porte elevado e bastante complexo com cerca de 400 espécies e mais de 200 subespécies e variedades chamadas *híbridos* [6]. Com poucas excepções, estas taxa são todos endémicos na Austrália e Tasmânia, a sua maioria ocorre no sul do Trópico de Capricórnio. Porém, alguns são nativos da Nova Guiné ou de algumas ilhas do Arquipélago da Indonésia.

Ocorrendo naturalmente de 7° N a 43° 39' S de latitude e cerca de 1800 m de altitude, o *Eucalyptus* adapta-se a vários climas estando disseminadas diferentes espécies deste género desde regiões secas até chuvosas [6].

a) Usos

O *Eucalyptus* possui maior importância económica não só na Austrália de onde é oriundo como também em vários países que tiveram sucessos na sua introdução. É usado como combustível lenhoso e produção de madeira para mobiliário; é rico em substâncias de alto valor comercial tais como taninos, óleos essenciais, néctar e pólen. De acordo com LAURNET *et al.*, (1986), este género provou ser útil na prevenção e controle da erosão.

Em geral, o óleo essencial de *Eucalyptus* é mais empregue para fins medicinais embora também se use na indústria de perfumes. A sua actividade medicinal tem despertado maior interesse, e aumentado esperança de este óleo poder resolver mais problemas sanitários no futuro, o que pode ser confirmado pelo aumento do número de investigações desta índole nos últimos anos [7-11].

3.1.1. *Eucalyptus Camaldulensis*

a) *Ocorrência Natural*

Planta da família Myrtaceae conhecida por eucalipto, o *Eucalyptus camaldulensis* é a espécie bastante disseminada de todas, encontrando-se em todos os Estados da Austrália excepto Tasmânia [12]. O clima varia de temperado no Sul a tropical no Norte e de subúmido a semi-árido. As temperaturas médias anuais máxima e mínima dos meses mais quente e mais frio variam de 29 - 35 a 11 - 20°C respectivamente. As precipitações anuais são em média 250 a 625 mm, existindo porém, lugares que atingem 1000 mm. Prefere terrenos aluvianos de origem vulcânica mas também cresce satisfatoriamente em terrenos areno-argilosos.

b) *Características e Usos*

O *E. camaldulensis* é uma árvore de porte moderado a muito elevado, atingindo normalmente 24 a 37 m de altura e 90 cm de diâmetro; por vezes atinge 50 m de altura e cerca de 2,10 m de diâmetro ou mais. Folhas simples, lanceoladas de inserção alterna. Inflorescência em panículas. Flores pequenas, brancas. Fruto cápsula.

É mais explorada para madeira e esta caracteriza-se por ser castanho-clara, forte, densa e durável que se usa para construções gerais, travessas para carris de linhas férreas, postes de iluminação e carvão vegetal. Por causa da sua alta densidade, a madeira desta espécie não é adequada para mobiliário por torná-lo muito pesado (LAURNET *et al.*, 1978).

As folhas contêm 8 a 17% de substâncias tânicas e apenas 0,27% de óleo essencial com composição complexa. A sua florescência acontece no verão e é de grande importância na produção de néctar e pólen [6]. Límpido, de cor amarelo-dourado, o mel cuja produção intervêm produtos de florescência desta espécie, é menos denso e aromático do que o resultante da florescência de *E. melliodora*, mas de melhor sabor.

3.1.1.1. A espécie em Moçambique

Existem algumas plantações desta espécie no Parque Nacional de Namaacha, mas embora pareçam saudáveis, apresentam um crescimento lento. Além disso, as árvores são muito ramificadas; todavia as mais crescidas possuem troncos bem lisos.

Perto da Costa, nas Reservas Florestais da Matola e Marracuene, o seu crescimento é mais rápido do que em Namaacha, mas as árvores são muito ramificadas. Em Guijá, nas imediações do rio Limpopo, também existem árvores desta espécie plantadas para produção de madeira, combustível lenhoso, mel, bem como para sombra e ornamentação (LEITÃO, 1963).

Dentro das condições tropical, subhúmida a semi-árida prevalentes (25 m de altitude, precipitação 613 mm) a espécie tem se mostrado resistente à seca e cresce muito rapidamente. É pouco afectada por *termite*s mas tem sido atacada por *Phoracanta semipunctata*. No anexo 2 apresenta-se um dos mapas de distribuição de diferentes espécies de *Eucalyptus* por blocos e talhões, notando-se a predominância da espécie *E. camaldulensis*. Este mapa foi extraído de um inventário florestal do projecto F.O-2 realizado em 1993 nas matas de Michafutene.

Resumindo o que se referiu no ponto 3, entre outras espécies vegetais existentes em Moçambique, produtoras de óleos essenciais, seleccionou-se o *E. camaldulensis* para o estudo, por um lado como contribuição às apreciáveis aplicações que motivaram a sua introdução nesta região geográfica, por outro, por se tratar de uma das espécies vegetais mais predominantes; resiste à seca e condições adversas (CRUZ, 1993). Possui maior capacidade de adaptação a diferentes nichos ecológicos.

4. COLHEITA DE AMOSTRAS E OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

4.1. COLHEITA DE AMOSTRAS

Segundo [13], a colheita de plantas para a extração e/ou análise de óleos essenciais deve realizar-se no período balsâmico, isto é, altura do ciclo vegetativo de maior conteúdo em essência. Esta corresponde normalmente à época de floração. Referentemente à hora do dia em que se fazem as colheitas, muitos autores apresentam ideias divergentes. Uns defendem que a colheita deve ser realizada entre dezasseis e dezoito horas em dias de sol e na altura de maior conteúdo em essência; outros defendem que ela deve ser feita no início da manhã, após o desaparecimento do orvalho, por neste período haver menos possibilidades de perder a essência por volatilização.

4.2. OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

4.2.1. Métodos

Em geral existem quatro métodos fundamentais usados para isolar os óleos essenciais de material vegetal. São a *destilação com vapor de água*, a *extração*, a *expressão* e a *adsorção em gorduras purificadas (enfleurege)* [5]. A *destilação* é o método mais antigo e talvez o mais usado de todos. Porém, ele é válido apenas para óleos cujos constituintes não sofrem decomposição à temperatura de vapor. Na prática moderna, o material a ser destilado, com exceção das folhas e pétalas é primeiro macerado para facilitar a separação das substâncias voláteis.

4.2.1.1. Destilação por arraste com vapor de água

A destilação por arraste com vapor de água é um processo de separação e purificação de compostos orgânicos por volatilização. As substâncias orgânicas a serem separadas devem ser insolúveis ou pouco solúveis em água.

Quando se faz passar vapor de água através de uma mistura da substância a separar e água, a substância co-destila-se com o vapor. No destilado, o composto separa-se da água por ser insolúvel

posicionando-se acima ou abaixo desta conforme a sua densidade relativa. Para separar substâncias que existem em menor quantidade numa mistura, a água pode ser combinada com a amostra num balão e aquecê-lo directamente. A destilação com vapor possui algumas vantagens de entre as quais se destacam as seguintes:

- muitos compostos, independentemente dos seus pontos "normais" de ebulição, destilam-se a temperaturas inferiores à da ebulição da água pura. O naftaleno por exemplo, um sólido com ponto de ebulição de 218°C, destila-se à temperatura inferior a 100°C [14];

- alguns compostos altamente voláteis decompõem-se ao atingirem os seus pontos de ebulição. Estes compostos podem ser separados com maior eficiência usando a destilação por arraste com vapor de água;

- o método pode ser usado para separar impurezas sólidas de solventes orgânicos altamente voláteis.

Os cuidados a ter ao trabalhar com este método incluem o uso de tubagem e vidraria seguras para evitar explosões; assegurar-se que os vapores não se cristalizem e fechem o condensador podendo causar perigo de explosão.

a) Aparelhos Extractores dos Óleos Essenciais

Existem muitos aparelhos para a extracção de óleos essenciais por arraste com vapor de água e todos eles são modificações tendentes a melhorar o aparelho originário primitivo de CLEVINGER. Nas fig. 1a e 1b mostram-se dois aparelhos do tipo Clevenger. No da fig. 1a, o material vegetal a ser extraído é introduzido no balão de destilação (1); adiciona-se 300 a 400 ml de água, aquece-se o balão de preferência com uma manta e os vapores resultantes sobem através do tubo ascendente (2) até ao condensador (3). São depois recolhidos no colector (4) onde em repouso, o óleo separa-se da água de co-destilação. Esta água é conduzida através do tubo de retorno (5) para o balão num processo contínuo. Alguns hidrolatos possuem actividade medicinal, à semelhança dos constituintes que os originam [15].

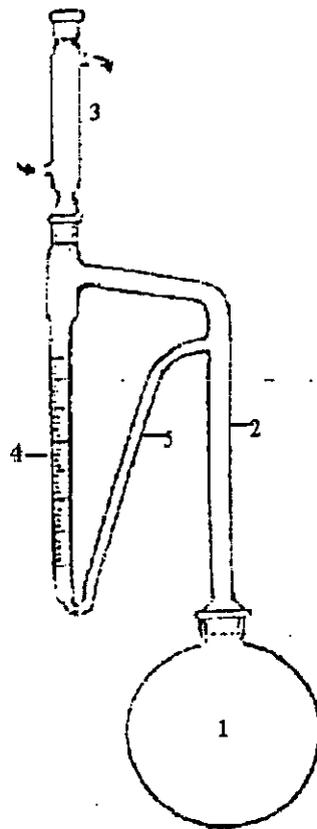


Fig. 1a - Esquema do aparelho tipo CLEVENGER para extração de óleos essenciais

O aparelho mais recente é provavelmente o aperfeiçoado por WASICKY e AKISUE [16] - fig. 1b. As partes fundamentais que o compõem e princípio do seu funcionamento não diferem muito dos do aparelho da fig. 1a. Devido ao melhoramento que estas partes tiveram, o aparelho apresenta as seguintes vantagens sobre o originário:

- o sistema evita o sobreaquecimento do óleo essencial depositado no colector que se encontra completamente isolado pela água que circula no refrigerante (3);
- o condensador multitubular de que é munido permite reduzir acentuadamente o comprimento, sem perda de eficiência;
- o tubo ascendente do vapor (2), consiste de uma parede dupla isolada por amianto, permitindo diminuir as perdas caloríficas;
- a disposição do colector do óleo em relação ao tubo de retorno (5) que leva a água de co-distilação para o balão (1), permite que o mesmo aparelho seja usado para extrair óleos mais ou menos densos que a água;

- a separação do óleo da água realiza-se por meio de uma torneira (4) localizada na extremidade inferior do colector do óleo, tornando a operação mais eficiente e segura.

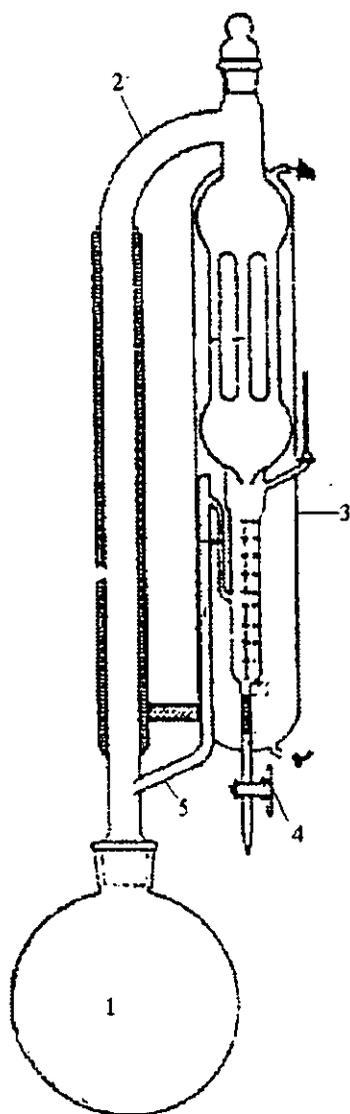


Fig. 1b - Esquema do aparelho aperfeiçoado por WASIKY e AKISUE

A destilação por arraste com corrente de vapor de água usando o aparelho modificado por **CORKING** e **MIDDLETON** é também outro método de extração dos óleos essenciais conhecido como método oficial [3].

4.2.1.2. Extracção

A *extracção* é o método recomendado para casos de óleos menos voláteis ou que se decompõem à temperatura de vapor. Usa solventes como o álcool e clorofórmio mas o mais usado é o éter de petróleo. O éter é aquecido a 50°C para melhor realizar a extracção e depois passado continuamente através de uma série de bandejas contendo o material a extrair em contracorrente. No fim do processo o solvente é removido por destilação a baixa pressão. Tal como acontece com outros métodos, o rendimento varia de uma espécie vegetal para outra, mas em geral é relativamente maior neste do que na destilação por arraste com vapor de água.

4.2.1.3. Adsorção e Expressão

No método de adsorção, a gordura é aquecida a 50°C e o material vegetal é espalhado na sua superfície até que esta esteja saturada. Segue-se a digestão com etanol e depois a remoção por arrefecimento a 20°C, de toda a gordura dissolvida. No fim, o extracto alcoólico é submetido à destilação fraccionada para separação dos terpenóides.

A *expressão*, é o método menos usado de todos. Usa-se para extrair óleos de citrinos tais como laranja, limão toranja e outros.

5. REFRACTOMETRIA E ÍNDICE DE REFRAÇÃO

A refractometria é um método analítico instrumental óptico que se baseia na medição do índice de refração. Quando um raio luminoso incide sob um ângulo (ângulo de incidência) na superfície de separação (interface) de dois meios transparentes, sofre desvio para o meio no qual a sua velocidade de propagação é menor.

O índice de refração de um óleo, que pode ser generalizado para qualquer substância, é a razão entre seno do ângulo de incidência e seno do ângulo de refração, quando um raio luminoso de comprimento de onda definido passa do ar para o óleo essencial mantido à temperatura constante. A temperatura de referência é de 20°C mas para o caso particular dos óleos essenciais, porque existem alguns que são sólidos à temperatura ambiente, a leitura pode ser feita a 25 ou 30°C dependendo do ponto de fusão do óleo em estudo [17]. A expressão matemática do índice de refração é dada por:

$$\text{Índice de Refracção, } \eta = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r},$$

Onde i = ângulo de incidência,

r = ângulo de refração.

Quando $i = 90^\circ$, r é o ângulo crítico, R , e

$$\text{sen } r = 1/\eta.$$

5.1. REFRACTÓMETRO

O instrumento usado para a medição do índice de refração é conhecido por refractómetro. O refractómetro mais usado é o do tipo Abbe. Coloca-se uma gota de amostra, no caso de uma amostra líquida, entre os prismas inferior e superior do instrumento e lê-se o valor do ângulo crítico que é depois convertido para o valor do índice de refração. Existem refractómetros que transformam o valor do ângulo crítico em valor do índice de refração, podendo este último ser lido directamente. Outro tipo de refractómetro é o de imersão, mas, embora tenha construção e

manipulação fáceis, é limitado à leitura de amostras cujos valores de índice de refração são mais elevados.

Os aspectos a tomar em consideração para se obter resultados fiáveis com os refractómetros, incluem entre outros, a medição à temperatura constante e a limpeza dos prismas.

O índice de refração é função da temperatura e do comprimento de onda da luz incidente. Usam-se normalmente as linhas D_1 e D_2 de sódio, que possuem uma média pesada de 5892,6 Å e simbolizam-se por D [18]. Nos instrumentos usuais, as alterações de pressão atmosférica não produzem variações apreciáveis.

5.1.1. Constituição e Funcionamento

A fig. 2a esquematiza a constituição de um refractómetro. A luz emitida pelas lâmpadas L_1 e L_2 atinge o telescópio seguindo a rota indicada. Quando se usa luz incidente branca, a dispersão resultante da mudança dos ângulos críticos dos diferentes índices de refração mascara a linha divisória da escala; para evitar este inconveniente instalaram-se dois prismas de Amici X e Y - fig. 2a. Estes prismas permitem que a luz atravessasse a linha D sem sofrer desvio na sua direcção. O esquema é elucidativo e dispensa detalhes sobre o funcionamento.

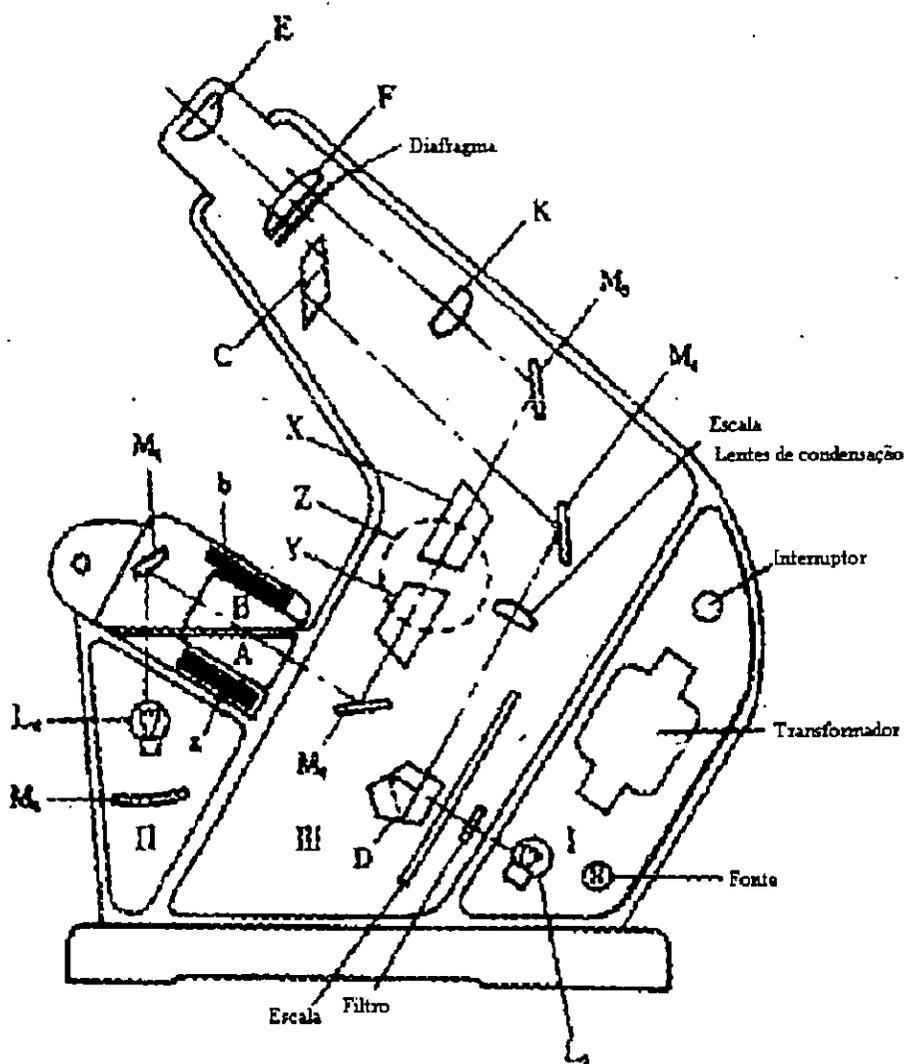


Fig.2a - Esquema do refractómetro

LEGENDA

- | | |
|--|---|
| A - Prisma principal de medição | K - Lente da objectiva |
| B - Prisma de dispersão | L ₁ - Lâmpada de iluminação da escala |
| a e b - Canais de circulação da água | L ₂ - Lâmpada de medição |
| C - Prisma de polarização para leitura da escala | M ₁ a M ₅ - Espelhos de reflexão |
| D - Prisma de reflexão da escala | X e Y - Prismas de Amici |
| E - Lente ocular | Z - Ajustador dos prismas de Amici e da escala de dispersão |
| F - Telescópio de linha cruzada | |

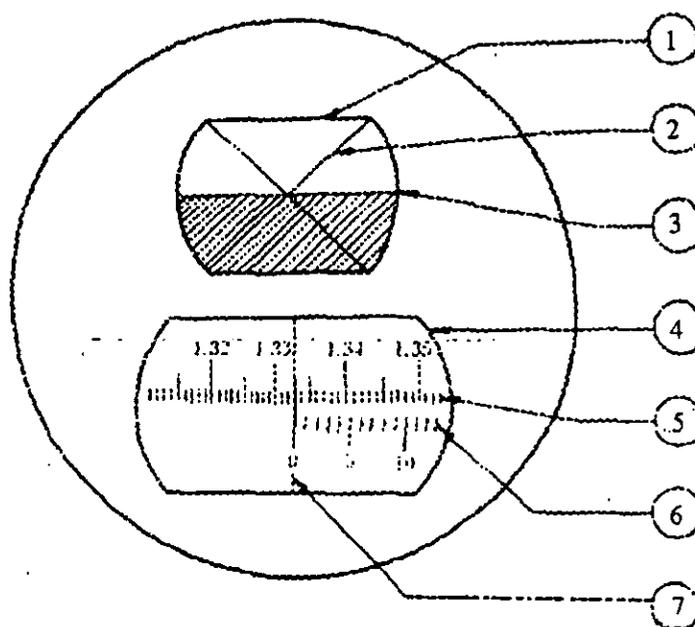


Fig.2b - Esquema do campo refractométrico

LEGENDA

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1 - Campo visual de medição | 5 - Escala de índice de refração (leitura mínima 1) |
| 2 - Retículo cruzado | 6 - Escala de % de açúcares (leitura mínima 1) |
| 3 - Linha divisória | 7 - Indicador da leitura da escala |
| 4 - Campo de leitura | |

5.1.2. Aplicações

Para além de caracterização de substâncias (óleos, gorduras, seras e outras), o índice de refração é muito usado na indústria para determinações quantitativas de álcool e açúcares em amostras como bebidas alcoólicas e xaropes [18].

II. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. AMOSTRAGEM

Uma vez seleccionado o *E. camaldulensis* (trabalho que seguiu ao levantamento) por razões já apontadas na introdução, procedeu-se à amostragem das suas folhas, acção realizada de Fevereiro a Junho do ano em curso, nas plantações do projecto F:O-2, pertencentes ao INIA. Estas plantações situam-se em Michafutene - Marracuene, província de Maputo e encontram-se organizadas em blocos e estes em talhões, cada um com área que varia de 9 a 20 ha.

Tendo em conta a necessidade de se obter amostras de árvores com diferentes idades para a comparação do rendimento, seleccionaram-se quatro talhões de um mesmo bloco, com idades de 2, 5, 7 e 11 anos. Em cada um dos talhões colheram-se ao acaso segundo [19], 50 amostras de folhas jovens para sacos plásticos tendo o peso de cada amostra variado de 1,5 a 2,0 kg. A amostragem realizou-se no período de manhã entre 8:00 e 11:00 H. e por coincidência, em dias com o céu muito nublado, o que exclui a possibilidade de ter havido perda de alguns constituintes do óleo essencial por volatilização. Trata-se de uma operação que contou com uma equipe composta por 5 pessoas e como meios materiais, escadotes para trepar as árvores mais altas (foram praticamente as de 7 e 11 anos) e tesouras para cortar os ramos terminais, portadores de folhas jovens. Sempre que não foi possível realizar análises no mesmo dia, as amostras foram conservadas na geleira a 4°C.

2. EXTRACÇÃO E "ESTUDO" DO ÓLEO ESSENCIAL

A extracção do óleo essencial do *E. camaldulensis* realizou-se por destilação por arraste com vapor de água tendo sido usado o aparelho do tipo CLEVINGER - fig.1a. O material e equipamento necessários foram:

- manta de aquecimento;

- balão de destilação de colo esmerilado com capacidade de 1 L;
- colector do tipo CLEVINGER (graduado) para óleos voláteis;
- condensador de água;
- balança técnica;
- banho de água termoestabilizado munido de recirculador de água;
- proveta graduada de 500 ml;
- pipetas de Pasteur para separação do óleo essencial.

2.1. TÉCNICA

Numa balança técnica pesaram-se cerca de 60 g de folhas jovens e tenras de *E. camaldulensis* e introduziram-se num balão de destilação de colo esmerilado com capacidade de 1 L; adicionou-se 300 ml de água destilada e acoplou-se o balão ao colector de CLEVINGER e este a um condensador de água com esta mantida a 25°C. O balão foi aquecido com uma manta e no fim do processo da destilação separou-se o óleo essencial por meio de pipeta de Pasteur. Paralelamente à destilação e usando o mesmo aparelho, determinaram-se experimentalmente o tempo óptimo de extracção do óleo das folhas de *E. Camaldulensis* bem como a temperatura óptima da água de refrigeração.

2.1.1. Tempo Óptimo de Extracção

O tempo necessário para que todo o óleo essencial esteja completamente isolado das folhas jovens do *E. camaldulensis* foi determinado directamente do aparelho de destilação. O colector do destilado no aparelho usado encontra-se graduado em décimas do mililitro, o que tornou possível a operação. Assim, iniciou-se a contagem do tempo com a queda da primeira gota, do condensador para o colector. A separação do óleo da água de co-destilação é imediata, deste modo, procedeu-se ao registo do seu volume em função do tempo. Interrompeu-se o processo de destilação quando o volume do óleo atingiu um máximo para além do qual não aumentava mais. Este máximo corresponde a um tempo que se considerou **tempo óptimo de extracção** do óleo essencial do *E.*

3. RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Os resultados de todos os ensaios realizados neste trabalho, com a exceção das características organolépticas encontram-se organizados sob forma de tabelas e gráficos.

3.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DO ÓLEO OBTIDO

Aspecto - límpido;

Côr - levemente amarelo;

Cheiro - canforáceo;

Sabor - fresco, ligeiramente amargo e picante.

3.2. RENDIMENTO

Tabela 3a - Resultados de extração do óleo essencial de *E. camaldulensis* por arraste com vapor de água.

Amostra: folhas novas;

Idade das árvores: 2 anos.

Nº DE ENSAIO	AMOSTRA 17A		
	Peso (gramas)	Volume do óleo (ml)	Rendimento (% p/v)
1	60,1	0,5	0,83
2	60,1	0,5	0,83
3	60,2	0,5	0,83
4	60,1	0,5	0,83
5	60,7	0,5	0,82
6	60,2	0,5	0,83
7	60,5	0,5	0,83
8	60,0	0,8	1,33
9	60,1	0,8	1,33
10	60,5	0,5	0,83
11	60,6	0,7	1,16
12	60,7	0,7	1,15
13	60,8	0,6	0,99
14	60,1	0,6	1,00
15	61,9	0,6	0,97
MEDIA	-	-	0,97

LIMITES DE CONFIANÇA

n	n - 1	\bar{x}	s	$t^*_{(0,05)}$	$\bar{x} \pm ts/n^{1/2}$
15	14	0,97	0,187	2,14	0,97 \pm 0,10

Tabela 3b - Resultados de extração do óleo essencial de *E. Camaldulensis* por arraste com vapor de água.

Amostra: folhas novas;

Idade das árvores: 5 anos.

Nº DE ENSAIO	AMOSTRA 4B		
	Peso (gramas)	Volume do óleo (ml)	Rendimento (% p/v)
1	60,1	0,7	1,16
2	60,1	0,7	1,16
3	60,4	0,7	1,16
4	60,2	0,7	1,16
5	61,1	0,6	0,98
6	60,4	0,6	0,99
7	60,8	0,7	1,15
8	60,2	0,6	1,00
9	60,6	0,6	0,99
10	61,0	0,6	0,98
11	60,5	0,7	1,16
12	60,9	0,7	1,15
13	60,3	0,6	1,00
14	61,9	0,7	1,13
15	60,0	0,7	1,17
MÉDIA	-	-	1,09

LIMITES DE CONFIANÇA

n	n - 1	\bar{x}	s	t*(0,05)	$\bar{x} \pm ts/n^{1/2}$
15	14	1,09	0,084	2,14	1,09 \pm 0,05

Tabela 3c - Resultados de extracção do óleo essencial de *E. Camaldulensis* por arraste com vapor de água.

Amostra: folhas novas;

Idade das árvores: 7 anos.

Nº DE ENSAIO	AMOSTRA 12B		
	Peso (gramas)	Volume do óleo (ml)	Rendimento (% p/v)
1	60,1	0,8	1,33
2	60,7	0,7	1,15
3	60,2	0,8	1,33
4	60,3	0,9	1,49
5	60,3	0,8	1,33
6	60,8	0,7	1,15
7	60,2	0,8	1,33
8	60,9	0,8	1,31
9	60,2	0,8	1,33
10	60,5	0,7	1,16
11	60,7	0,8	1,32
12	60,7	0,8	1,32
13	60,4	0,8	1,32
14	60,9	0,7	1,15
15	60,6	0,5	0,82
MÉDIA	-	-	1,26

LIMITES DE CONFIANÇA

n	n - 1	\bar{x}	s	$t^*_{(0,05)}$	$\bar{x} \pm ts/n^{1/2}$
15	14	1,26	0,154	2,14	1,26 \pm 0,08

Tabela 3d - Resultados de extração do óleo essencial de *E. Camaldulensis* por arraste com vapor de água.

Amostra: folhas novas;

Idade das árvores: 11 anos.

Nº DE ENSAIO	AMOSTRA 21		
	Peso (gramas)	Volume do óleo (ml)	Rendimento (% p/v)
1	60,1	0,8	1,33
2	60,4	0,8	1,32
3	60,7	0,9	1,46
4	60,1	0,8	1,33
5	60,4	0,8	1,33
6	60,6	0,8	1,32
7	61,1	0,7	1,15
8	60,4	0,7	1,16
9	60,4	0,7	1,16
10	60,7	0,8	1,32
11	60,9	0,8	1,31
12	60,2	0,7	1,16
13	60,6	0,7	1,16
14	60,8	0,8	1,32
15	60,1	0,8	1,33
MÉDIA	-	-	1,28

LIMITES DE CONFIANÇA

n	n - 1	\bar{x}	s	$t^*(0,05)$	$\bar{x} \pm ts/n^{1/2}$
15	14	1,28	0,094	2,14	1,28 \pm 0,05

3.2.1. Tratamento estatístico das Médias do Rendimento

3.2.1.1. Análise de Variância - ANOVA

a) Hipótese nula H_0 : as amostras provêm de populações normalmente distribuídas com médias e variâncias iguais.

b) Hipótese alternativa H_1 : as médias são diferentes, mas as variâncias são iguais.

Tabela 4 - Parâmetros necessários para o teste ANOVA

	AMOSTRA			
	17A	4B	12B	21
n	15	15	15	15
\bar{x}	0,97	1,09	1,26	1,28
s	0,187	0,084	0,154	0,094
s^2	0,035	0,007	0,024	0,009
$\sum x$	14,56	16,34	18,84	19,16
$(\sum x)^2$	211,99	267,00	354,94	367,10
$\sum x^2$	14,62	17,90	23,99	24,60
$n_T = 60$ $\sum x_T = 68,90$ $\sum x^2_T = 81,11$ $CT = 79,12$				

Tabela resumo da ANOVA

Fonte de variação	SS	df	S^2	F
Entre amostras	0,95	3	0,32	16,00
Dentro da amostra	1,04	56	0,02	
Total	1,99	59		

$\alpha = 0,05$ $F^*_{(3, 56)} = 2,84$

$F_{ob.(3, 56)} = S^2_b / S^2_w = 0,32 / 0,02 = 16,00;$

CONCLUSÃO: $F > F^* \Rightarrow$ REJEITA-SE A HIPÓTESE NULA - A diferença entre os valores médios do rendimento nas quatro amostras analisadas onde $n = 15$ em cada caso, é estatisticamente significativa.

3.2.1.2. Esclarecimento da diferença observada

Tabela 5 - Resumo das médias com os respectivos intervalos de confiança.

Amostra	17A	4B	12B	21
Idade (anos)	2	5	7	11
Rendimento (% v/p)	0,97	1,09	1,26	1,28
Intervalo de confiança	0,87 - 1,07	1,04 - 1,14	1,18 - 1,34	1,23 - 1,33

2 0,97
 5 1,09
 7 1,26
 11 1,28

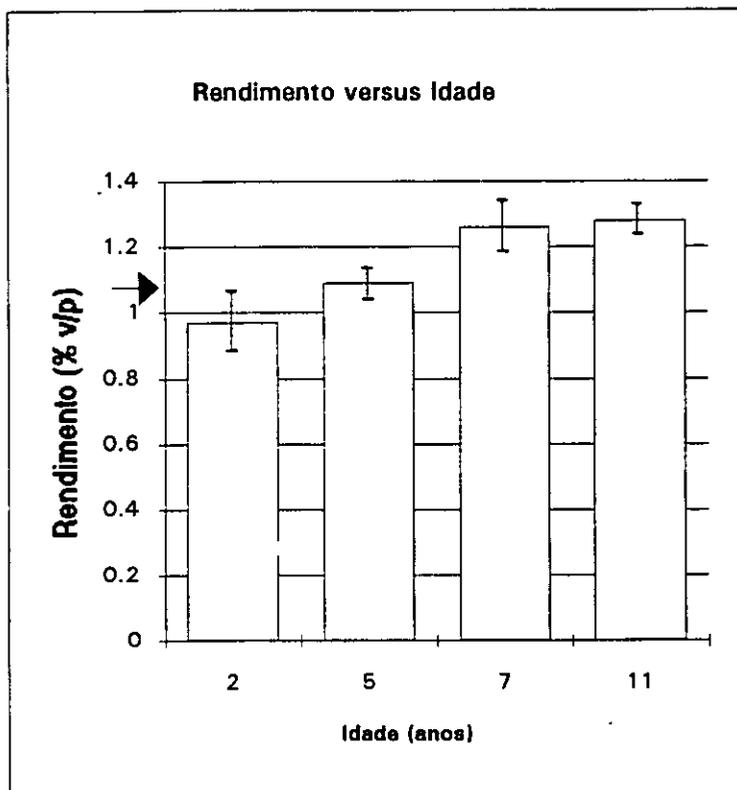


Fig. 3 - Ilustração gráfica da evolução do rendimento/idade das árvores.

3.3. TEMPO ÓPTIMO DE EXTRACÇÃO

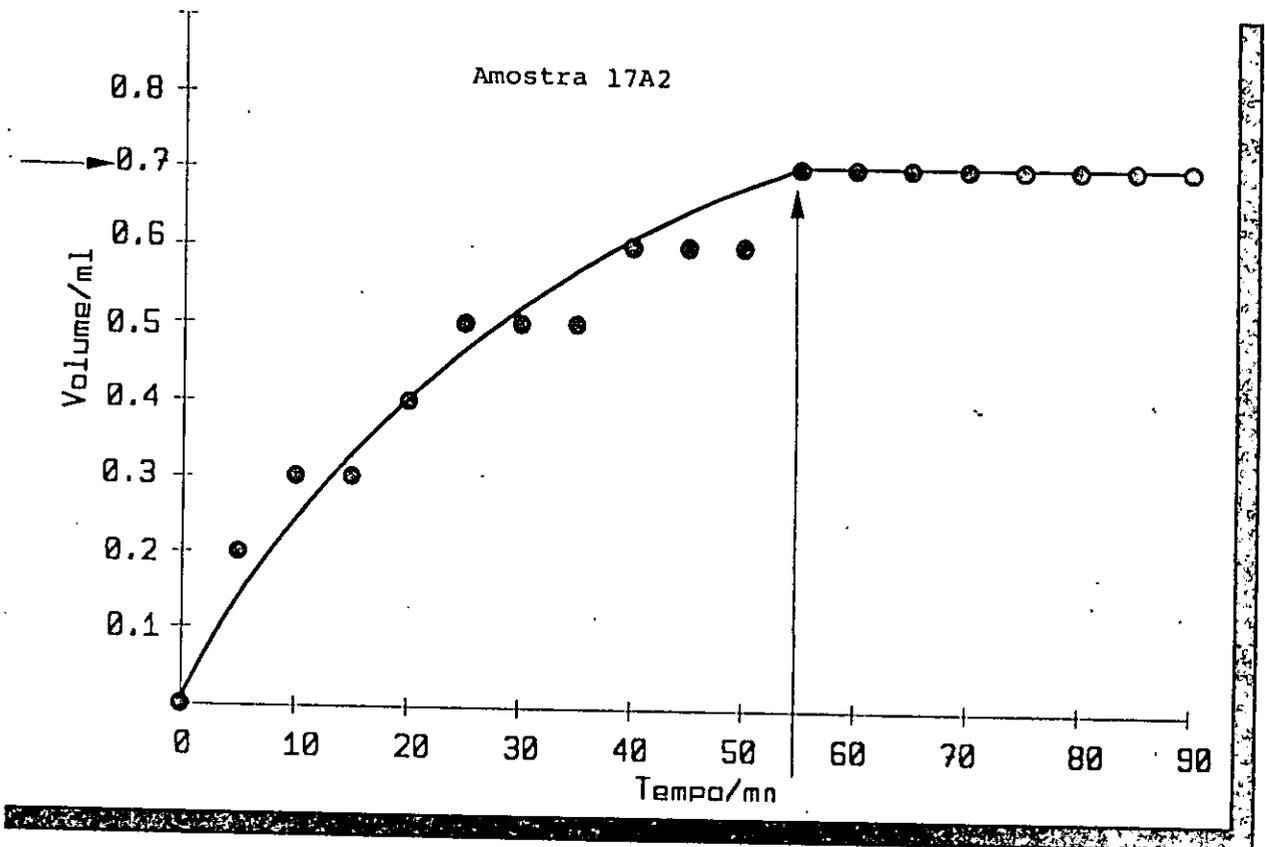
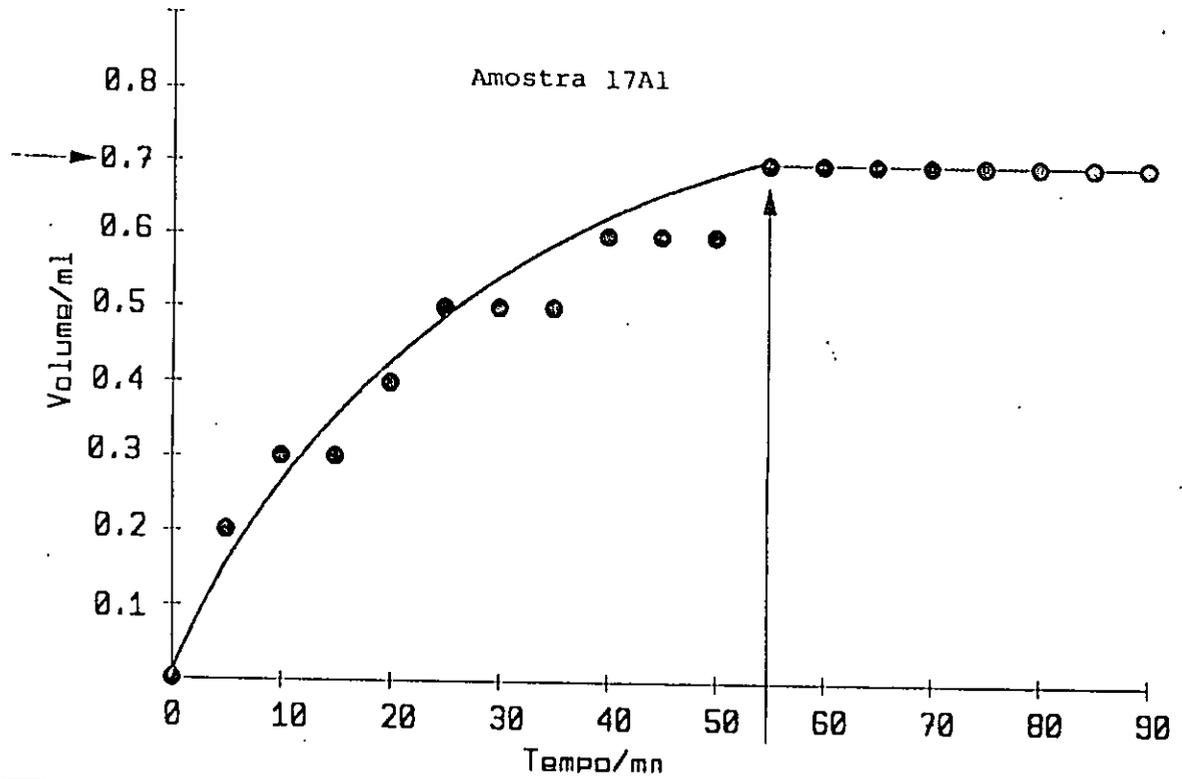


Fig. 4 - Evolução do volume do óleo com o tempo de destilação.

3.4. TEMPERATURA ÓPTIMA DA ÁGUA DE REFRIGERAÇÃO

Tabela 6 - Resultados experimentais da destilação das folhas de *E. camaldulensis* com água de refrigeração a diferentes temperaturas - amostra 12B.

Temperatura da água de condensação (°C)	10	15	20	25
Volume do óleo (ml)	0,8	0,8	0,8	0,8

10 0.8
15 0.8
20 0.8
25 0.8

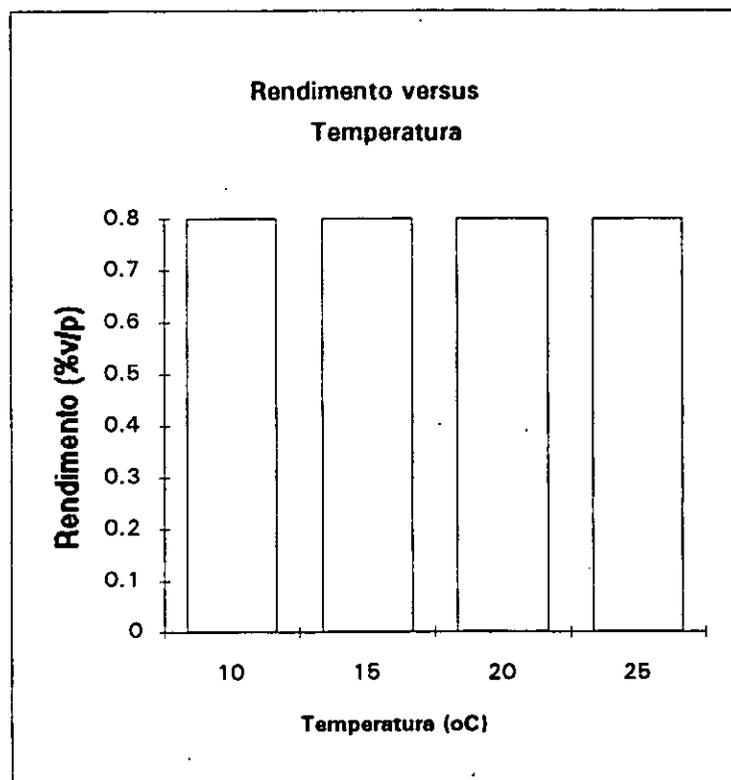


Fig. 5 - Ilustração gráfica do efeito da temperatura de refrigeração sobre o rendimento

3.5. ÍNDICE DE REFRAÇÃO A 20°C

Tabela 7 - Resultados experimentais

Nº DE ENSAIO	AMOSTRA			
	17A	4B	12B	21
1	1,4655	1,4655	1,4655	1,4655
2	1,4655	1,4655	1,4660	1,4660
3	1,4655	1,4655	1,4660	1,4655
4	1,4660	1,4655	1,4655	1,4655
5	1,4655	1,4655	1,4660	1,4660
MÉDIA	1,4656	1,4655	1,4658	1,4657

LIMITES DE CONFIANÇA				
n	5	5	5	5
n - 1	4	4	4	4
s	0,0002	0	0,0003	0,0003
s ²	5 x 10 ⁻⁸	0	7,5 x 10 ⁻⁸	7,5 x 10 ⁻⁸
t [*] _(0,05)	2,78	2,78	2,78	2,78
$\bar{x} \pm ts/n^{1/2}$	1,4656 ± 0,0002	1,4655 ± 0	1,4658 ± 0,0004	1,4657 ± 0,0004

Tratamento Estatístico das Médias - Tabela Resumo da ANOVA				
Fonte de variação	SS	df	S ²	F
Entre amostras	0	3	0	0
Dentro da amostra	0,0001	16	6,2 x 10 ⁻⁶	
Total	0,0001	19		

$$\alpha = 0,05; \quad F^*_{(3,16)} = 3,2$$

CONCLUSÃO: $F < F^* \Rightarrow$ ACEITA-SE H_0 . A diferença entre os valores médios do índice de refração nas quatro amostras analisadas onde $n=5$ em cada caso, não é estatisticamente significativa.

4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS EXPERIMENTAIS

4.1. RENDIMENTO

O rendimento foi o parâmetro que muito contribuiu para se obter uma ideia da influência que certos factores exercem sobre a planta no que concerne aos seus constituintes, pese embora não seja este o objectivo fundamental deste estudo. Neste trabalho, os valores obtidos variam de 0,97 a 1,28 % v/p. O valor citado na bibliografia como sendo média do rendimento desta mesma espécie na Austrália é 0,27 % [6]. As causas desta tão marcante diferença só podem ser atribuídas a factores de património ecológico e/ou genético. No que se refere à diferença observada entre os valores médios, confirmada estatisticamente segundo o teste ANOVA, um esclarecimento da natureza desta diferença por meio de um histograma (fig.3) indica que existe sobreposição dos limites de confiança nas primeiras duas amostras que correspondem às árvores com 2 e 5 anos, acontecendo o mesmo nas duas últimas com 7 e 11 anos; mas, curiosamente, os intervalos de 5 e 7 anos não se sobrepõem. Este comportamento permite dividir as amostras em dois grupos com médias do rendimento diferentes entre si, porém, não se nota nenhuma diferença significativa entre amostras de cada grupo. Esta constatação pode servir como base de orientação para amostragem; neste caso seria aconselhável colher árvores com idades de 7 anos em diante visto serem os que possuem maior rendimento.

4.2. TEMPO ÓPTIMO DE DESTILAÇÃO

Um factor importante a ter em conta é o tempo de duração da destilação, que depende da composição química dos óleos essenciais. Por exemplo, os óleos essenciais ricos em compostos monoterpénicos separam-se rapidamente quando destilados pelo vapor de água, mas aqueles que contêm predominantemente compostos de núcleo aromático e sesquiterpenos, possuindo tensões de vapor muito mais baixas, só decorridas algumas horas se encontram isolados completamente (FERNANDES COSTA, 1975).

No caso particular do taxon em estudo, realizaram-se ensaios prévios para determinar o tempo ideal de extracção de modo a obter óleo essencial com bom rendimento e boa qualidade. Assim,

verificou-se que 55 minutos é o tempo necessário para isolar todos os constituintes, o que sugere predominância de monoterpenos neste óleo.

Dados bibliográficos indicam que o tempo normalmente recomendado para destilar os óleos essenciais varia de hora e meia a quatro horas [13]. Todavia, os resultados obtidos neste trabalho não devem constituir nenhuma surpresa uma vez que a duração da destilação está condicionada à natureza química dos componentes, a qual por sua vez depende da acção de factores quer extrínsecos, quer intrínsecos à planta produtora do óleo essencial.

4.3. TEMPERATURA ÓPTIMA DA ÁGUA DE REFRIGERAÇÃO

O teste foi realizado com o propósito de investigar a possível existência no óleo, de substâncias muito mais voláteis que, perdendo-se a altas temperaturas, pudessem ter comportamento inverso a temperaturas baixas.

As temperaturas estabelecidas durante os ensaios foram 10, 15, 20 e 25°C. Em nenhuma delas houve variação do rendimento do óleo essencial em estudo - fig.4. Isto indica que para os constituintes em causa, apesar da sua alta volatilidade conforme as constatações anteriores baseadas nos resultados do tempo de destilação, não constitui nenhum perigo condensá-los a qualquer temperatura de 10 a 25°C. Porém, para estudo qualitativo e/ou quantitativo, poderá ser importante a condensação a baixas temperaturas; pois, apesar dos resultados experimentais sugerirem ausência de perdas, pode ser que hajam mas que não sejam suficientes para influenciar o rendimento.

5. CONCLUSÕES

5.1. RENDIMENTO

Nas quatro amostras provenientes de quatro plantações com idades diferentes os valores médios do rendimento foram $0,97 \pm 0,10$, $1,09 \pm 0,05$, $1,26 \pm 0,08$ e $1,28 \pm 0,05$ para árvores com 2, 5, 7 e 11 anos respectivamente. O teste ANOVA aplicado aos resultados sugere existir diferença significativa entre eles. O rendimento tende a aumentar com o aumento da idade das árvores, mas admite-se a possibilidade de o factor idade interagir com outros e juntos conduzirem à diferença observada.

5.2. TEMPO ÓPTIMO DE DESTILAÇÃO

Os dados experimentais obtidos neste trabalho indicam que o tempo necessário para que todo o óleo essencial esteja completamente extraído das folhas do *E. camaldulensis* por destilação com arraste de vapor de água usando o aparelho de Clevenger é de 55 minutos - ver fig. 3. Alguns autores referem que uma hora e meia a quatro horas é o tempo geralmente gasto na extracção de óleos essenciais pelo mesmo método [13]. Apesar de se verificar uma diferença, não deve constituir nenhuma surpresa porquanto o tempo de destilação depende da natureza química dos constituintes do óleo, determinada por factores ecológicos e/ou genéticos na planta.

5.3. TEMPERATURA ÓPTIMA DA ÁGUA DE REFRIGERAÇÃO

O ensaio realizado destilando folhas do *E. Camaldulensis* com água de refrigeração a diferentes temperaturas (10, 15, 20 e 25°C) não sugere influência no rendimento; porém, o teste não é tão eficiente para evidenciar pequenas perdas que possam ter influência significativa para estudo qualitativo e/ou quantitativo, pelo que é aconselhável a condensação a baixas temperaturas.

5.4. ÍNDICE DE REFRACÇÃO

O valor médio do índice de refração do óleo nas quatro amostras analisadas é 1,4656. O índice de refração do óleo de *Eucalyptus spp.* varia de 1,4580 a 1,4710 (FARMACOPEIA EUROPEIA, 4ª EDIÇÃO, 231). Não se conseguiu na literatura, nenhum valor do índice de refração da espécie estudada, para comparação com o obtido experimentalmente.

6. LIMITAÇÕES E RECOMENDAÇÕES

O conhecimento popular de que a queima de folhas tenras de eucalipto repele mosquitos, preocupa o autor deste trabalho, no sentido de encontrar um suporte baseado em dados experimentais e científicos. Um dos objectivos preconizados neste trabalho é o ensaio da actividade medicinal dos óleos essenciais; apesar de se ter testado a acção do óleo estudado em larvas de mosquitos, no Instituto Nacional de Saúde, e revelado resultados positivos, não se prosseguiu com os trabalhos complementares devido a dificuldades de ordem financeira.

Em relação à aplicação industrial deste óleo, existe um projecto sobre plantas medicinais, financiado pela PNUD, Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento, no qual a Universidade E. Mondlane vai participar. Este projecto vai arrancar num futuro próximo e entre outros produtos naturais contempla o óleo essencial de eucalipto para o estudo.

Face ao que se constatou ao longo do trabalho e às limitações acabadas de mencionar recomenda-se o seguinte para trabalhos futuros:

- fazer estudo qualitativo e quantitativo do óleo essencial do *E. camaldulensis*
- testar a actividade deste óleo dando prioridade a larvas de mosquito, larvas strongyloides e de outros helmintos. No caso de resultados positivos, fraccionar o óleo e testar a actividade de cada fracção, na qual se deve paralelamente, identificar os constituintes responsáveis pela acção verificada.

6.1. COMENTÁRIOS

Resultados positivos, constituiriam um avanço significativo na luta contra a malária e certas helmintíases; pois, é do conhecimento de todos que a população rural de Moçambique é vítima de uma variedade de parasitoses endémicas e muitas vezes estas atingem todas as camadas sociais, tornando a população fisicamente debilitada. A solução do problema sanitário é condição prévia essencial para o avanço económico e a profilaxia e cura destas doenças tornam-se prioritárias em qualquer plano de desenvolvimento. É verdade que para o caso de algumas destas doenças existem

medicamentos adequados para a sua cura, mas as condições reinantes de incidência elevada e falta de hábitos higiénicos fazem com que os curados se reinfestem dentro de poucas semanas. Nestes casos deve-se concentrar atenção na profilaxia. Pode-se prever um modo prático de aproveitar a actividade do óleo essencial. Dada a sua natureza química, as formas de aproveitamento incluiriam:

- Uso de substâncias ou óleos activos em preparações de aplicação tópica (sabões, pomadas, etc.) pelas populações expostas às parasitoses;
- Plantio de espécies portadoras de óleos activos em solos infestados com ovos ou larvas de parasitas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] - Oliveira, M.M. e M.S. Pais (1987). Estruturas Secretoras em *Humulus* (Lúpulo): Ontogenia e Aspectos Ultra-estruturais da Elaboração do Secretado. Segundas Jornadas Nacionais de Óleos Essenciais e Plantas Aromáticas. 109 - 220.
- [2] - Allinger, N.L., M.P., D.C. de Jongh, C.R. Johnson, N.A. Lebel e C.L. Stevens (1978). Química Orgânica. Segunda Edição, 673 pp. Rio de Janeiro, Guanabara Dois S.A.
- [3] - Wagner, H., S. Bladt e E. M. Zgainski (1984). Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. "única", 5 pp. New York, Berlin Heidelberg.
- [4] - Wade, A. and J.F. Reynolds (1985). Martindale. The Extra Pharmacopoea. Twenty-seventh Edition. 1011 pp. London, The Pharmaceutical Press.
- [5] - Finar, I.L. (1975). Organic Chemistry. Fifth Edition, 354 pp. Singapore, Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd.
- [6] - Poynton, R.J. (1979). Tree Planting in Southern Africa. Vol. 2, 132 pp. Republic of South Africa.
- [7] - Takasaki, M., T. Konoshima, M. Kozuka, M. Haruna, K. Ito, W.D. Grow e D.M. Paton (1994). Euglobal-In-1, a New Euglobal from *Eucalyptus Incrassata*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 42 (10): 2113 - 2119.
- [8] - Webb, N.I., W.R. Pitt (1993). Eucalyptus Oil Poisoning in Childhood: 42 Cases in South Queensland. Journal of Paediatrics & Child Health. 29 (5): 368 - 439.
- [9] - Witman, B.w., H. Ghazizadeh (1994). Eucalyptus Oil: Therapeutic and Toxic Aspects of Pharmacology in Humans and Animals. Journal of Paediatrics & Child Health. 30 (2): 190 - 192.

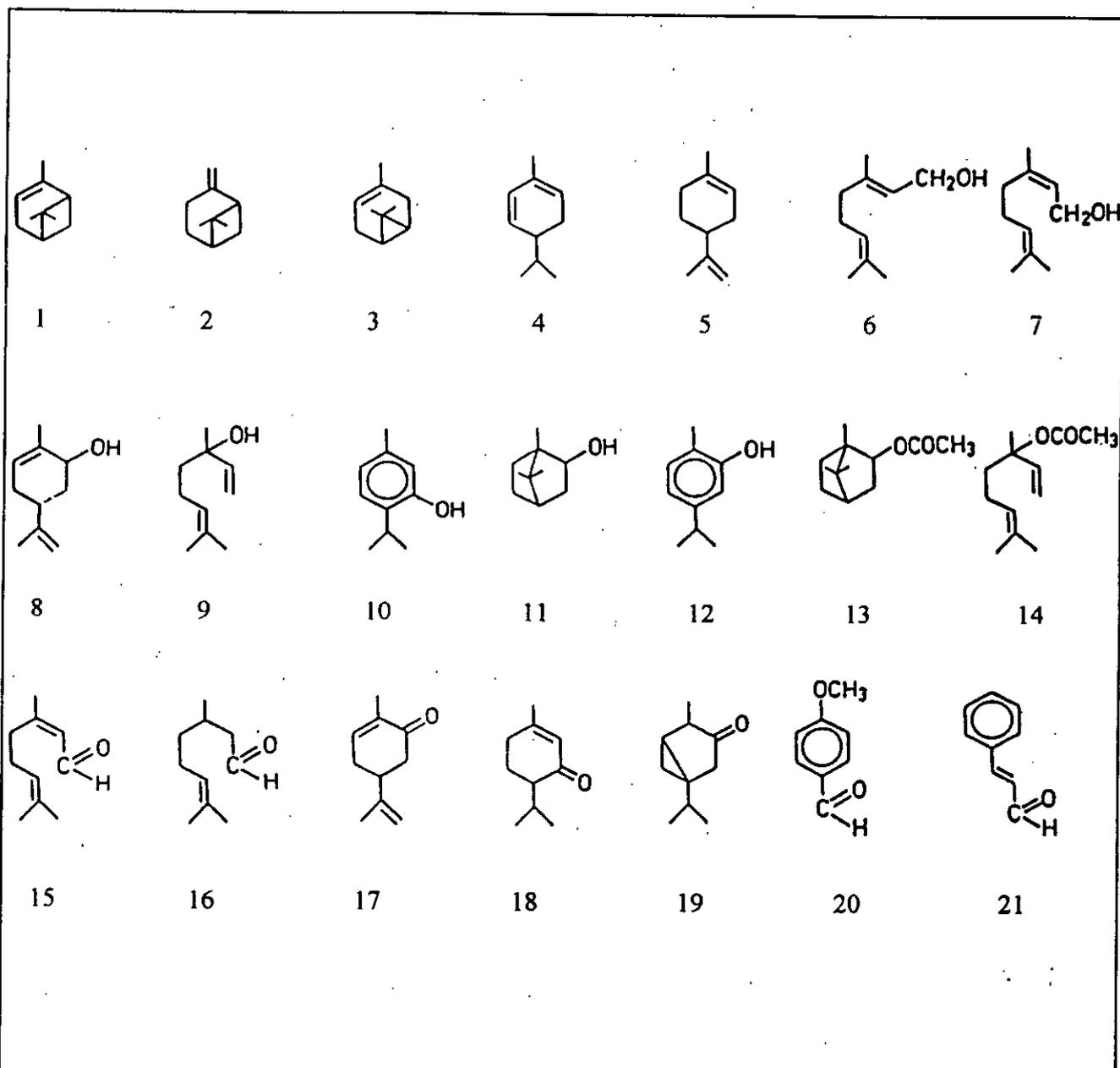
- [10] - Schreck, C.E., B.A. Leonhardt (1991). Efficacy Assessment of Queenling, a Mosquito Repellant from china. Journal of the American Mosquito Control Association. 7 (3): 433 - 439.
- [11] - Pearse B.H., S.K. Peucker (1991). Comparison of a Liquid and a Powder Insecticidal Dressing to aid Healing and Prevent Flystrike of Mulesing Wounds in Lambs. Australian Veterinary Journal. 68 (5): 163 - 167.
- [12] - Cremer, K.W. (1990). Trees for Rural Australia. "única", 410 pp. Sydney, Inkata Press.
- [13] - Lígia M.R.P.S. (1989). Pesquisa e Caracterização de Quimiotipos em Plantas Aromáticas. Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra. 13 (1): 75 - 107.
- [14] - Shugar, G.J., R.A. Shugar (1981). Chemical Technicians' Ready Reference Handbook. Second Edition, 357 pp. New York, Mc Graw-Hill Book Company.
- [15] - Jansen, A.M., J.J.C. Scheffer and A.B. Svendsen (1987). Antimicrobial Activities of Essential Oils. Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition. 9 (4): 193 - 297.
- [16] - Gokithi, A. (1971). Um Novo Aparelho Extractor de Óleo Essencial. V Congresso Internacional de Óleos Essenciais. 158 - 160.
- [17] - Brown, G.H., E.M. Salle (1963). Quantitative Chemistry. "Único", 597 pp. New York, Prentice Hall.
- [18] - Welcher, F.J., (1966). Standard Methods of Chemical Analysis. Sixth Edition, 255 pp. New York, Van Nostrand Reinhold Company.
- [19] - Wonnacott, T.H., R.J. Wonnacott (1990). Introductory Statistics. Fifth Edition, 5 pp. New York, John Wiley & Sons.
- [20] - Conover, W.J. (1980). Practical Nonparametric Statistics. Second Edition, 376 pp. New York, John Wiley & Sons.

- [21] - Fowler J. and L. Cohen (1990). Practical Statistics for Field Biology. First Edition, 181 pp. Great Britain, Redwood Press, Limited.
- [22] - Miller, J.C. and J.N. Miller (1988). Statistics for Analytical Chemistry. Second Edition, 70 pp. New York, John Wiley & Sons.
- [23] - Monteiro, M.Y. (1988). Plantas Medicinais e Suas Virtudes. Acta Amazônica. 18 (1 - 2): 377 - 366.
- [24] - Kivanç, M. and A. Akgül (1986). Antibacterial Activities of Essential Oils from Turkish Spices and Citrus. Flavour and Fragrance Journal. 1: 175 - 179.
- [25] - Cunha A. (1967). Identificação e Dosagem por Cromatografia Gás Líquido dos Hidrocarbonetos do Óleo Essencial de *Eucalyptus Punctata* D.C., de Angola. Garcia de Orta. 15 (1): 87 - 92.
- [26] - Cunha, A.P., M.T.C. Neves (1968). Análise do Óleo Essencial de *Eucalyptus citriodora* de Angola. Garcia de Orta. 16 (1):41 - 50.
- [27] - Cunha, A.P. e J.C. Vale (1969). Estudo Cromatográfico e Químico do Óleo Essencial de *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, de Angola. Garcia de Orta. 17 (4):413 - 420.
- [28] - Rudloff, E.V. (1972). Seasonal Variation in The Composition of The Volatil Oil of The Leaves, Buds and Twigs of White Spruce (*Picea glauca*). Canadian Journal of Botany. 50: 1595 - 1603.
- [29] - Rudloff, E.V. (1966). Gas - Liquid Chromatography of Terpenes - XIV. The Chemical Composition of The Volatil Oil of The Leaves of *Picea rubens* Sarg. and Chemotaxonomic Correlations With Other North American Spruce Spices. Phytochemistry. 5: 331 - 341.

[30] - Lígia, M., R.P. Salgueiro, A.P. Cunha (1987). Composição Química do Óleo Essencial de *Thymus zygis* L: Subsp. *sylvestris* (HOFFM. & LINK) Brot. Ex. Cout. da Região Centro de Portugal. Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra. 11 (1): 107 - 118



ANEXO 1 - FÓRMULAS DE ALGUNS CONSTITUINTES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

1 - α -pineno2 - β -pineno3 - Δ^3 -careno4 - α -felandreno

5 - limoneno

6 - geraniol (*trans*)7 - nerol (*cis*)

8 - carveol

9 - linalol

10 - timol

11 - borneol

12 - carvacrol

13 - bornilacetato

14 - linalilacetato

15 - citral

16 - citronelal

17 - carvona

18 - piperitona

19 - tujona

20 - anisaldeído

21 - aldeído cinâmico

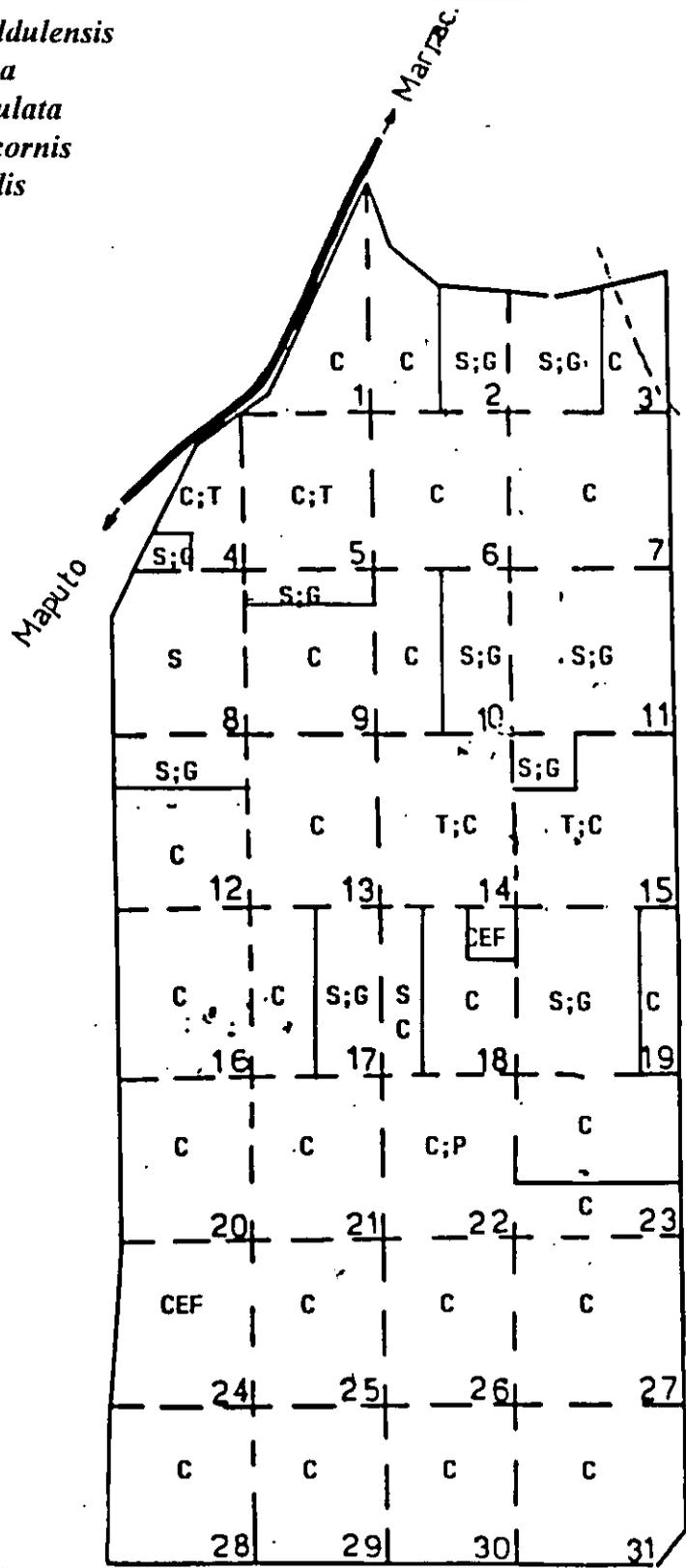
ANEXO 2 - PLANTA TOPOGRÁFICA

ROJECTO F.O.2

MICHAFUTENE - BLOCO II

MAPA 1 - DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES POR TALHÕES

- C = *E. camaldulensis*
- S = *E. saligna*
- P = *E. paniculata*
- T = *E. tereticornis*
- G = *E. grandis*



ESC. : 1/20000

ÁREA: 639 Ha

ANEXO 3 - TESTES ESTATÍSTICOS

1. DISTRIBUIÇÃO t DE STUDENT

Este teste é usado para estabelecer limites de confiança quando se lida com resultados cuja amostra provém de uma população com desvio padrão σ desconhecido. O termo **confiança** significa neste caso que pode-se afirmar com certa probabilidade que entre os limites mínimo e máximo está incluído o valor real do parâmetro em estudo. Os limites de confiança determinam o intervalo de confiança e o tamanho deste depende do nível de confiança pretendido. Usa-se normalmente o valor de 95% que corresponde a um risco de 5% [20]. Os limites de confiança são dados por:

$$\mu = \bar{x} \pm ts/n^{1/2}$$

onde s é estimativa do desvio padrão da amostra e t é uma constante para $n - 1$ graus de liberdade e nível de confiança α . À medida que o número de graus de liberdade tende para o infinito, t aproxima-se de uma curva normal.

2. "ANALYSIS OF VARIANCE" (ANOVA)

Em todas as medições, existem duas fontes que causam a variação dos resultados em torno do valor médio. A primeira, sempre presente, é devida ao **erro ao acaso**; a segunda, está relacionada com um **factor controlado** ou **fixo** [21]. A análise de variância, ANOVA, é um teste estatístico extremamente potente que pode ser usado para distinguir uma fonte de variação da outra desde que:

- a população esteja normalmente distribuída;
- o número de ensaios n em cada amostra seja o mesmo;
- as variâncias das amostras sejam homogêneas.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 3 - TESTES ESTATÍSTICOS

Assim, para os cálculos consideram-se duas variações:

a) variação dos resultados dentro de uma amostra;

b) variação dos resultados entre amostras devida à diferença entre os valores médios das populações nas quais se fez a amostragem. Por outras palavras,

Varição total = variação dentro da amostra + variação entre amostras.

2.1. FÓRMULAS

Soma dos quadrados: $SS = \sum x^2 - (\sum x)^2/n$ (1)

onde:

x - valor numérico de cada ensaio realizado;

n - número de ensaios em cada amostra. A expressão $(\sum x)^2/n$ chama-se termo de correcção (CT).

Soma total dos quadrados: $SS_T = \sum x^2_T - CT$ (2)

Soma dos quadrados entre amostras: $SS_b = (\sum x_1)^2/n_1 + (\sum x_2)^2/n_2 + \dots + (\sum x_h)^2/n_h - CT$ (3)

onde h é o número de amostras analisadas.

Soma dos quadrados dentro da amostra: $SS_w = (SS_T - SS_b)$ (4)

ou

$SS_w = [\sum x^2_1 - (\sum x_1)^2/n_1] + [\sum x^2_2 - (\sum x_2)^2/n_2] + \dots + [\sum x^2_h - (\sum x_h)^2/n_h]$ (5)

Graus de liberdade df da soma dos quadrados

$SS_T = n_T - 1$ (6)

$SS_b = h - 1$ (7)

$SS_w = n_T - h$ (8)

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 3 - TESTES ESTATÍSTICOS**Variâncias**

Variância entre amostras: $S_b^2 = SS_b/df_b$ (9)

Variância dentro da amostra: $S_w^2 = SS_w/df_w$ (10)

3. TESTE F

O teste F compara as variâncias, de modo a formular juízo sobre diferentes populações ou efeito de muitas variáveis testadas em simultâneo [22]. O valor observado de F é dado por

$$F = S_1^2/S_2^2 \text{ (onde } S_1^2 > S_2^2 \text{)}$$

Neste teste formula-se como hipótese nula que as variâncias das populações são iguais e que estas encontram-se normalmente distribuídas. Quando o valor observado de F é maior que o valor crítico, rejeita-se a hipótese nula.

ANEXO 4 - DICIONÁRIO DE ALGUNS TERMOS USADOS NO TEXTO

acção rubefaciente - efeito que causa rubefacção ou vermelhidão na pele.

brônquio - cada um dos dois canais, que são o prolongamento da traqueia e se ramificam nos pulmões, comunicando-lhes o ar.

bronquíolo - ramificação terminal dos brônquios.

bronquite - doença muito vulgar que atinge indivíduos de todas as idades e sobrevém quer a um resfriamento, quer a uma irritação das vias respiratórias.

bronquite crónica - bronquite que, em oposição à aguda, se prolonga percorrendo lentamente o seu período.

carminativo - preparado farmacêutico com propriedades de expulsar gases do intestino.

cipó - nome comum de plantas sarmentosas.

congestão dos bronquíolos - afluência mórbida do sangue nos bronquíolos.

desconforto gástrico - perturbação do estômago.

dôr reumática - dôr cujo carácter dominante é uma fluxão articular, muscular, visceral ou nervosa, acompanhada de fenómenos dolorosos.

edulcorante - substância usada para adoçar um medicamento ou outro preparado insípido ou amargo.

endémico - o que é particular de uma região.

estimulante cutâneo - preparado farmacêutico destinado a estimular a pele.

excreção - acção pela qual os resíduos inúteis à economia animal são expelidos do corpo.

híbrido - o que é proveniente de espécies diferentes por hibridação.

hidrolato - água em que, por meio de destilação, se dissolveram os princípios voláteis de certas plantas.

indústria de fragrâncias - o mesmo que indústria de aromas.

néctar - substância de sabor adocicado produzida por algumas plantas incluindo o eucalipto.

neuralgia - dôr viva que se sente no trajecto dos nervos.

pólen - pó fecundante das plantas.

purgativo - preparado farmacêutico que desembaraça de impurezas e substâncias estranhas no estômago.

substância de refugo - substância considerada sem valor.

taninos - substâncias adstringentes que se encontram em determinados vegetais incluindo o eucalipto.