

Q. ORL. 1A

Q. ORL.

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TRABALHO DE LICENCIATURA

*TEMA: Análise de Óleos Essenciais de Origem Vegetal por
Cromatografia em Fase Gasosa*

*SUBTEMA: Determinação dos Principais constituintes dos Óleos Essenciais de
Eucaliptos de Namaacha, Marracuene e Mahotas*

Autor: Venildo Ernesto Mussane

Maputo, Dezembro de 1998

**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

TRABALHO DE LICENCIATURA

*TEMA: Análise de Óleos Essenciais de Origem Vegetal por
Cromatografia em Fase Gasosa*

*SUBTEMA: Determinação dos Principais constituintes dos Óleos Essenciais de
Eucáliptos de Namaacha, Marracuene e Mahotas*

**Autor: Venildo Ernesto Mussane
Supervisor: dr. Felisberto P. Pagula**

Maputo, Dezembro de 1998

*À Mariana de Maida e
À Yumaina da Muhta...*

Uma presença e um apoio moral muito precioso.

U.E.M. DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BIBLIOTECA
R. E. 54-T.L.A.
DATA 19.07.86
AQUISIÇÃO OFERTA
COTA.....

*À S^{ca} Hamina Marta "Ñuavelemo" Muchanga,
à Dona Hanifa Palmira "Ñuadede" Boa,
a meus irmãos,
e a todos os meus parentes...*

*Um muito obrigado pela contribuição no delineamento dos meus horizontes
e pelos sacrifícios consentidos ao longo destes anos.*

*À memória de meu saudoso pai,
Sr. Ernesto Siquissiane Mussane
E de meu primeiro Mestre,
Sr. Tomás Dique Nhaca...*

Que Deus os tenha em eterno descanso.

*Ao Senhor professor
Dr. Felisberto Pagula,
O Supervisor deste trabalho...*

A homenagem respectiva.

Agradecimentos

Tenho a exprimir ao Sr. prof. Pavel Zacarov o meu profundo reconhecimento pela confiança que me testemunhou e pelo interesse constante nos meus trabalhos durante os anos que durou o Curso.

Esta investigação pôde ser realizada em parte, graças à ajuda desinteressada da Sra. Amélia. A ela, os meus agradecimentos.

Endereço os meus sinceros agradecimentos aos Senhores Dr. Rui Carlos da Maia e Dr. Víktor Skripets pelos preciosos conselhos que me deram para este trabalho.

Gostaria de exprimir a minha gratidão ao Sr. Ângelo Segumundo Mavulula (Namaacha) e ao Sr. Safo (Marracuene), pelo apoio prestado durante a recolha das amostras.

Ao Projecto FO 2 de Marracuene, à Direcção Distrital de Agricultura e Pescas de Namaacha e à Direcção da Quinta da Flor Real das Mahotas, os meus agradecimentos pelas facilidades e apoio na colheita das amostras.

À dra. Ernestina Xavier dos Santos, uma palavra de apreço pela vontade manifestada de colaborar na realização das diversas tarefas.

Aos Mestres, Ernesto Zandamela e Estêvão Mondlane, o meu obrigado pela sua ajuda nos meus primeiros passos durante a minha infância, ao ensinar o A, B, C, cujos frutos são hoje colhidos. Para eles assim como a todos os professores que contribuíram para a minha formação, vai a promessa de dar tudo quanto seja possível, de modo a serem recordados para sempre.

Maputo,..... de 1998

O Autor

Venildo Ernesto Mussane

Declaração sob palavra de honra

O presente Trabalho de Licenciatura foi realizado pelo Autor com base nos recursos a que se faz referência ao longo do texto.

O Autor

Venildo Ernesto Mussane

Maputo,..... de 1998

Glossário

EM	- <i>Espectroscopia de Massa</i>
OE's	- <i>Oleos Essenciais</i>
OE	- <i>Oleo Essencial</i>
CCF	- <i>Cromatografia em Camada Fina</i>
CFG	- <i>Cromatografia em Fase Gasosa</i>
Rend^{to}	- <i>Rendimento</i>
Rend.	- <i>Rendimento</i>
CGS	- <i>Cromatografia Gás-sólido</i>
CGL	- <i>Cromatografia Gás-líquido</i>
Nam^{cha}	- <i>Namaacha</i>
Mar^{ne}	- <i>Marracuene</i>
t_{crit}	- <i>t crítico</i>
t_{obs}	- <i>t observado</i>
Extr	- <i>Extracção</i>
C. Normal	- <i>Clevenger Normal</i>
C. Mod	- <i>Clevenger Modificado</i>
Salig	- <i>Saligna</i>
Citr	- <i>Citriodora</i>
Teret	- <i>Tereticórnis</i>
Panic	- <i>Paniculata</i>
Grand	- <i>Grandis</i>
Citr. C. Mod	- <i>Citriodora extraído com o Clevenger Modificado</i>
Salig. C. Mod	- <i>Saligna extraído com o Clevenger Modificado</i>
T12R	- <i>Talhão 12, rebentos</i>
T12V	- <i>Talhão 12, folhas velhas</i>
T4	- <i>Talhão 4</i>
T12C	- <i>Talhão 12 folhas castanhas</i>
TS	- <i>Teste de Significância</i>

Índice

Dedicatória	i
Agradecimentos	v
Declaração sob palavra de honra	vi
Glossário	vii
Índice	viii
Índice de tabelas	xiii
Índice de figuras	xv
Errata	xvi
Resumo	xvii
Introdução	1
Objectivos do Trabalho	3
Metodologia do Trabalho	3
CAP. I - Revisão Bibliográfica	4
1.1 - A Importância das Plantas	4
1.1.1 - O Eucalipto	4
1.1.2 - Eucaliptos estudados	4
1.2 - Produção dos óleos essenciais em relação à organogénese dos tecidos de Eucaliptos	5
1.3 - A Química dos Produtos Naturais	6
1.4 - Os óleos essenciais	6
1.5 - Os compostos maioritários e suas propriedades	8
1.6 - Noções gerais de Cromatografia	14
1.6.1 - Teoria cromatográfica	14
1.7 - Cromatografia de Camada Fina (CCF)	15
1.7.1 - Vantagens da CCF	15
1.7.2 - Material básico e Técnica Geral	16
1.7.2.1 - Aplicação das amostras	16
1.7.2.2 - Desenvolvimento das placas	16
1.7.2.3 - Reproducibilidade de valores R_f	16
1.8.3 - Reactivos reveladores	16
1.8.4 - Avaliação da resolução da coluna	16
1.8.4.1 - Verificação das substâncias reveladas	16
1.8 - Cromatografia em Fase Gasosa (CFG)	17
1.8.1 - Princípio do método	18
1.8.2 - Introdução e descrição	18

1.8.3 - O cromatograma	19
1.8.4 - Anomalias dos cromatogramas e sugestões	21
1.8.4.1 - Baixa resolução	21
1.8.4.2 - Resolução inadequada	21
1.8.4.3 - Picos assimétricos	21
1.8.4.4 - Picos com cauda	22
1.8.4.5 - Separação boa mas tempos de retenção longos	22
1.8.4.6 - Picos não resolvíveis	22
1.8.4.7 - Picos pequenos	22
1.8.4.8 - Picos falsos	22
1.8.5 - Definições e teoria fundamental	23
1.8.5.1 - O volume de retenção (não corrigido), V_r	23
1.8.5.2 - O volume morto V_m	23
1.8.5.3 - O volume de retenção corrigido V_r'	23
1.8.5.4 - O volume de retenção absoluto V_n	23
1.8.5.5 - O volume de retenção específico V_g	23
1.8.5.6 - Relações de retenções relativas	24
1.8.5.7 - O coeficiente de partição K	24
1.8.5.8 - Altura equivalente a um prato teórico.	24
1.8.6 - Avaliação Quantitativa	24
1.8.6.1 - Método do Padrão Externo	24
1.8.7 - Detectores	25
1.8.7.1 - Requisitos gerais	25
1.8.7.2 - Tipos de detectores	25
1.8.7.3 - O Detector FID	26
1.8.8 - A Coluna	26
1.8.8.1 - Colunas gás-sólido	27
1.8.9 - O Injetor	27
1.8.9.1 - Injecção da amostra	27
1.8.9.2 - Análise quantitativa	28
1.8.9.3 - Determinação de áreas	28
1.8.9.4 - Análise qualitativa	28
1.8.10 - Técnicas de Cromatografia em Fase Gasosa	28
1.8.10.1 - Análise frontal	28
1.8.10.2 - Análise por deslocamento	28
1.8.10.3 - Análise por gradiente de temperatura	29
1.8.10.4 - Eluição	29
1.8.10.5 - Programação do caudal	29

CAP. II - Parte Experimental	32
2.1 - As amostras	32
2.2 - Os padrões	32
2.3 Análises realizadas	32
2.3.1 - Índice de Refracção	32
2.3.2 - Densidade	33
2.4 - Cromatografia em Camada Fina - CCF	33
2.4.1 - Material usado	33
2.4.2 - Preparação das amostras	33
2.4.3 - Eluente	33
2.4.4 - Detecção	33
2.4.5 - Documentação	33
2.4.6 - Desenvolvimento das amostras	33
2.5 - Cromatografia em Fase Gasosa - CFG	33
2.5.1 - O Aparelho	33
2.5.2 - Condições de funcionamento	34
CAP. III - Resultados Experimentais	35
3.1 - Resultados do rend. da extracção com o Clevenger Normal	33
3.1.1 - Rendimento da 1 ^a colheita (Namaacha e Mahotas)	33
3.1.2 - Rendimento da 1 ^a colheita (Marracuene)	34
3.1.3 - Rendimento de 2 ^a colheita de Namaacha	35
3.2 - Resultados da extracção com o Clevenger Modificado(1 ^a colheita)	36
3.2.1 - Tratamento estatístico das médias dos rendimentos	37
3.3 - Testes de Significância (TS) (Análise de Variância)	38
(Comparação - A) - Entre 1 ^a e 2 ^a colheita de citriodora	38
(Comparação - B) - Entre 1 ^a e 2 ^a colheita de Saligna de Namaacha	38
(Comparação - C) - Entre Saligna de Namaacha e de Marracuene	38
(Comparação - D) - Tereticórnis com o C. Normal e C. Mod.	39
(Comparação - E) - Citriodora com o C. Normal e C. Mod.	39
3.4 - Resultados da medição dos Índices de Refracção	39
3.5 - Resultados da medição da Densidade	39
3.6 - Cromatografia em Camada Fina	40

3.7 - Cromatografia em Fase Gasosa	40
3.7.1 - Ordem de eluição dos padrões	40
3.7.2 - Perct ^{gem} dos componentes maioritários - E. Camaldulensis	40
3.7.2.1 - Limites de confiança	41
3.7.2.2 - Outros componentes do E. Camaldulensis	42
3.7.3 - Perct ^{gem} dos componentes maioritários - C. Mod	42
3.7.4 - Perct ^{gem} dos componentes maioritários - C. Normal	43
3.7.4.1 - Limites de confiança	45
3.7.4.2 - Outros componentes dos óleos de Eucaliptos tratados	47
3.8 - Testes de Significância (TS) (Análise de Variância)	48
Comparação - F - Perct ^{gem} do Citronelal, 1 ^a e 2 ^a extr - Citr. C. Normal	48
Comparação - G - Perct ^{gem} do Citronelal, 1 ^a extr - Citr. C. Normal e C. Mod	48
Comparação - H - Perct ^{gem} do 1,8 - cineol - Teret. C. Normal e C. Mod	48
Comparação da Perct ^{gem} - Saligna de Nam ^{cha} 1 ^a e 2 ^a extr - C. Normal	49
CAP. IV - Avaliação dos Resultados	50
4.1 - Rendimento dos óleos - extracção com o C. Normal	50
4.1.1 - Cinerea	50
4.1.2 - Rend. dos óleos em relação à época de colheita	51
4.2 - Perct^{gem} dos principais componentes	51
4.2.1 - Relação Perct ^{gem} /época de colheita	51
4.3 - Rend. dos óleos - extracção com o C. Modificado	52
4.4 - Estudo dos constituintes de alto valor comercial	52
4.5 - Considerações sobre os componentes	53
4.6 - Sobre os óleos de E. Camaldulensis estudados em 1996	53
4.7 - O que se perde nos Eucaliptais	54
4.8 - Os óleos mais rentáveis	55
4.9 - Resultados da medição do índice de refração e da densidade	55
4.10 - Cromatografia em Camada Fina - CCF	55
CAP. V - Conclusões e Recomendações	56
Referências Bibliográficas	58

Anexos

1 - Compostos maioritários

- 1.1 - Química de alguns compostos maioritários (Citronelal, 1,8 - cineol e α -pineno)

2 - CCF

- 2.1 - Amostras
- 2.2 - Padrões
- 2.3 - Cromatoplasas de A a G
- 2.4 - Cálculo de Rf
- 2.5 - Intervalo de Rf dos padrões e pontos coincidentes nas amostras dos óleos
- 2.6 - Compostos existentes nos óleos

3 - CFG

3.1 - Cromatogramas CFG dos padrões - Coluna capilar, polar DB - Wax

- 3.1.1 - α -pineno, α -felandreno, p-cimeno e Citronelal
- 3.1.2 - α -pineno e Mirceno
- 3.1.3 - β -pineno e p-cimeno
- 3.1.4 - d(3)- careno e d-cadineno
- 3.1.5 - Limoneno e β -citronelol
- 3.1.6 - 1,8-cineol e Carvacrol
- 3.1.7 - Linalol
- 3.1.8 - β -pineno, γ -terpineno e Citronelal
- 3.1.9 - Mistura de padrões

3.2 - Cromatogramas CFG das Amostras - Coluna capilar, polar DB-Wax

- 3.2.1 - Cromatograma de E. Citriodora 1ª extracção - C. Normal
- 3.2.2 - Cromatograma de E. Citriodora 2ª extracção - C. Normal
- 3.2.3 - Cromatograma de E. Citriodora - C. Mod.
- 3.2.4 - Cromatograma de E. Saligna de Namaacha 1ª extracção
- 3.2.5 - Cromatograma de E. Saligna de Namaacha 2ª extracção
- 3.2.6 - Cromatograma de E. Tereticórnis - C. Normal
- 3.2.7 - Cromatograma de E. Tereticórnis - C. Mod.
- 3.2.8 - Cromatograma de E. Paniculata . C. Normal.
- 3.2.9 - Cromatograma de E. Grandis - C. Normal
- 3.2.10 - Cromatograma de E. Saligna de Marracuene - C. Normal
- 3.2.11 - Cromatograma de E. Cinerea - C. Normal

4 . Fórmulas Estatísticas

- 4.1 - Distribuição t (student)
- 4.2 - Testes de Significância
 - 4.2.1 - Comparação das médias de dois grupos de amostras
- 4.3 - Cálculo de Rf na CCF

Índice de tabelas

1 - Dados sobre o rendimento e percentagem de principais compostos de alguns óleos de Eucaliptos	5
2 - Dados sobre as plantas	30
3 - Rendimento das extracções das colheitas de Namaacha e Mahotas	33
4 - Rendimento das extracções das colheitas de Marracuene	34
5 - Rendimento das extracções das colheitas de Namaacha	35
6 - Rendimento das extracções com o Clevenger Modificado	36
7 - Cálculo dos limites de confiança das médias dos rendimentos	37
8 - Testes de significância dos óleos obtidos com o Clevenger Normal	38
9 - Testes de significância de óleos obtidos com o Clevenger Modificado	39
10 - Percentagem dos componentes maioritários do E. Camaldulensis	40
11 - Limites de confiança da percentagem dos componentes maioritários do E. Camaldulensis	41
12 - Outros componentes do E. Camaldulensis	42
13 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos - C. Mod.	42
14 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos - C. Normal	43
15 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos - C. Normal(cont.)	44
16 - Limites de confiança das percentagens dos componentes maioritários	45
17 - Limites de confiança das percentagens dos componentes maioritários (cont.)	46
18 - Limites de confiança das percentagens dos componentes maioritários (cont.)	47
19 - Percentagem de outros componentes dos óleos de Eucaliptos estudados	47
20 - TS dos teores dos principais componentes de Eucaliptos	48
21 - TS dos teores dos principais componentes do Saligna de Namaacha 1ª e 2ª extracção	49

22 - Percentagem e diferença das percentagens do E. Camaldulensis	54
23 - Cálculo de Rf de Saligna de Namaacha e de Citriodora	anexos
24 - Cálculo de Rf de Cinerea e Saligna de Marracuene	anexos
25 - Cálculo de Rf de Paniculata e Grandis	anexos
26 - Cálculo de Rf de Tereticórnis	anexos
27 - Intervalo de Rf e pontos coincidentes nas amostras	anexos
28 - Compostos existentes nos óleos	anexos

Índice de figuras

Figura	Fonte	pp
1 - Aparelho de Clevenger Normal	prof Ernesto Pedro	2
2 - Aparelho de Clevenger Modificado	prof. Ernesto Pedro	2
3 - Esquema cromatográfico	Batham, MG (1990) 3rd edition, Sweden(a)	14
4 - Avaliação da Resolução da coluna em cromatoplaca	[1]	17
5 - Esquema de um sistema de CFG	[8]	18
6 a) - Representação esquemática do coeficiente de partição	[7]	19
6 b) - Cromatograma esquemático de uma mistura	[7]	19
7 - Baixa resolução	(a)	21
8 - Resolução inadequada	(a)	21
9 - Picos assimétricos	(a)	21
10 - Picos com cauda	(a)	22
11 - Separação boa mas Tr longos	(a)	22
12 - picos não resolvíveis	(a)	22
13 - Picos pequenos	(a)	22
14 - Gráfico de linearidade	(a)	25
15 - Esquema de um detector FID	[7]	26
16 - Desenho esquemático de uma cabeça de injeção	[8]	27

Errata

Resumo

O presente trabalho foi efectuado no Laboratório da Faculdade de Ciências, Departamento de Química Universidade Eduardo Mondlane.

Teve a colaboração do Royal Institute of Tecnology de Estocolmo, Suécia, na confirmação dos resultados experimentais.

É uma continuação do estudo sobre o rendimento da extracção dos óleos essenciais de várias espécies de Eucalipto a partir de folhas frescas. As amostras foram colhidas em Marracuene, Namaacha e Mahotas e consistem de rebentos que crescem após o corte da planta adulta, pois dão rendimentos mais altos e produzem óleos de boa qualidade [22].

São aprofundados os conhecimentos quantitativos da composição dos óleos essenciais a fim de se decidir sobre os seus valores comerciais e sobre um possível estudo de viabilidade de exploração destes recursos.

As folhas são todas de plantas jovens (rebentos) e foram deixadas secar durante 3 dias antes de se iniciar a extracção do óleo essencial. Para este fim, foi usado o Aparelho de Clevenger.

Os métodos usados são a Cromatografia em Camada Fina (CCF) e Cromatografia em Fase Gasosa (CFG), sendo este o meio principal e o CCF um auxiliar de análise.

Os resultados alcançados, de uma forma geral, reflectem os rendimentos e percentagens internacionalmente considerados normais e, é de considerar que o *E. Saligna* de Marracuene e o *E. Citriodora* têm boas percentagens de α -pineno e Citronelal, respectivamente.

O *E. Paniculata* e o *E. Grandis* só têm valor académico, devido aos rendimentos dos óleos.

Desta forma, foram aprofundados os conhecimentos sobre a Cromatografia, em particular o CFG e o CCF, revista a importância dos eucaliptais, a extracção e determinação dos componentes existentes nos seus óleos assim como uma apreciação dos resultados alcançados em 1996 sobre o *E. Camaldulensis*.

Introdução

Este Trabalho é uma continuação da análise das plantas produtoras de óleos essenciais, neste caso concreto, foram estudados óleos extraídos de folhas jovens (rebentos) de certos tipos de Eucaliptos.

O estudo pode ser dividido pelas seguintes áreas:

1 - Importância Científica

O aperfeiçoamento da investigação da Cromatografia como método de análise de óleos voláteis e as propriedades destes, é um dos objectivos a atingir. Com maior incidência, aprofunda-se a parte teórica da Cromatografia, o estudo dos óleos essenciais e sua extracção.

2 - Importância Económica e Técnica

É sabido que os óleos essenciais são uma grande fonte de diversos compostos naturais, tendo estes, diversas propriedades como por exemplo, medicinais. Assim, o seu estudo revela-se importante para o desenvolvimento da área e, também podem ser estudados e desenvolvidas novas técnicas de extracção. Neste trabalho, foi experimentado com relativo êxito o Clevenger Modificado.

Este aparelho, tem a mesma estrutura que o Normal, diferindo contudo, na zona de recolha do óleo essencial que se encontra coberto por um tubo dentro do qual circula água fria, melhorando assim o sistema de arrefecimento.

Os esquemas dos aparelhos podem ser vistos na página seguinte.

Algumas hipóteses podem ser formuladas:

1 - Uso do Clevenger Modificado:

- a) o rendimento do óleo pode ser melhorado;
- b) os componentes dos OE's deverão ter uma diferença significativa com relação aos obtidos usando o Clevenger Normal.

2 - A mesma planta colhida em locais diferentes, apresentará ou não a mesma composição em termos de:

- a) compostos existentes;
- b) se sim, qual a percentagem destes compostos.

3 - Quais as plantas em Moçambique que podem se usadas, pelo menos numa fase experimental, como fontes de OE's e qual a sua composição.

Objectivos do Trabalho

- 1 - Prática da Cromatografia na determinação qualitativa e quantitativa;
- 2 - Estudo da importância dos eucaliptais e produção dos seus óleos;
- 3 - Determinação dos teores dos principais constituintes;
- 4 - Revisão do estudo feito em 1996 sobre o E. Camaldulensis:
 - Estudo dos efeitos da conservação das folhas de Eucalipto;
 - Estudo da relação idade/rendimento;
 - Reconfirmação dos resultados então alcançados, usando um aparelho de maior sensibilidade.

Metodologia do Trabalho

O trabalho compreende as seguintes fases:

Revisão Bibliográfica
Trabalho Experimental
Apresentação dos Resultados
Avaliação dos Resultados
Conclusões e Recomendações

CAP. I - Revisão Bibliográfica

1.1 - A Importância das Plantas

As plantas constituem um dos recursos naturais mais importantes, sendo usadas para o consumo humano e animal, matéria prima para a indústria, assim como outros fins. Há muito que se usam plantas sob as mais diversas formas para curar males e aliviar sofrimentos.

O estudo químico de plantas tem despertado ao longo da História o interesse de farmacêuticos, químicos, agrónomos, médicos e, mais recentemente de leigos, com vista à descoberta ou à justificativa das actividades daquelas usadas como medicinais [1].

1.1.1 - O Eucalipto

Pertence à família das *mirtáceas*. Existem cerca de 300 *géneros* e, aproximadamente 3000 *espécies*. Esta *família* tem representantes em todo o Mundo, especialmente nas Américas e na Austrália. São plantas arbustivas ou árvores de grande porte, tronco geralmente liso com folhas inteiras alternas ou opostas com pontuação translúcida. As flores são, em geral, efémeras com muitos estames. A flor é do tipo baga ou capsular com muitas sementes.[10]

Das folhas de muitas espécies pode extrair-se o *eucaliptol*; várias dão madeira apreciável, quando seca em boas condições e algumas produzem uma goma-resina. [13]

Várias mirtáceas são produtoras de óleos e entre os Eucaliptos se destacam os tipos de uso medicinal (*E. Globulus*), aromatizante doméstico (*E. Citriodora*), desinfectante (*E. Dives*) e outros como fonte de compostos de interesse químico[10].

O *eucaliptol* pode ser conduzido, pela exploração, para vários objectivos: desde a produção pronta e muito rentável de simples lenha, à produção de madeira para vários fins, de travessa de caminhos de ferro até à marcenaria, o que tudo obriga a ter em conta as espécies a empregar.[13]

De tempos para cá, tem se desenvolvido uma outra indústria não menos importante que se dedica à produção de óleos essenciais a partir do *Eucalipto*.

1.1.2 - Eucaliptos estudados

Foram estudados os seguintes tipos de Eucaliptos: *E. Citriodora* (Namaacha), *E. Saligna* (Marracuene e Namaacha), *E. Tereticórnis*, *E. Paniculata*, *E. Grandis*, *E. Camaldulensis* (Marracuene) e *E. Cinerea* (Mahotas).

Na consulta bibliográfica efectuada foram encontrados os seguintes valores, em termos de rendimento, compostos maioritários e suas percentagens nos óleos.

Tabela 1 - Dados sobre o rendimento e percentagem dos principais componentes de alguns óleos de Eucalipto

Fonte	Planta	Rendimento	Compostos	Percentagem
[16]	citriodora Saligna	05.10 01.30	cineol -	vestígios -
[11]	Tereticórnis	00.64	p-cimeno cuminaldeído criptona α -pineno 1,8-cineol	75.00 11.00 05.50 02.00 01.00
	citriodora	-	citronelal citronelol	72.80 14.50
[21]	tereticórnis	-	1,8-cineol α -pineno β -pineno	37.49 13.14 02.03
[2]	citriodora 1	-	citronelal geraniol	65.50-70.00 11.00-12.00
	citriodora 2	-	citronelal geraniol	56.50-60.00 13.50-14.00
[23]	citriodora	-	citronelal 1,8-cineol	66.70-76.10 00.40-05.00
[15]	Citriodora	- -	Citronelal Citronelol 1,8-cineol	72.00 27.00 1.00
[8]	Citriodora	-	Citronelal Citronelol	72.8 14.5

1.2 - Produção do óleo essencial em relação à organogénese dos tecidos de Eucaliptos

Segundo um estudo realizado em culturas organizadas de *E. Citriodora* ficou demonstrado que a capacidade de síntese de quantidades significativas de monoterpenos normalmente produzidos em células especializadas, é perdida durante o crescimento.

A organogénese é necessária e as raízes gozam um papel importante na biossíntese de óleo como é evidenciado por um crescimento no conteúdo do óleo com o aparecimento do citronelol na iniciação da raiz do *E. Citriodora*. Plantas regeneradas a partir de outras maduras, contêm altas concentrações de óleo, citronelol e citronelal do que aquelas regeneradas através da semente [14].

Nos trabalhos de Ntimane A. [22] e Cumbane A. [11], ficou demonstrado que as folhas de rebentos dão maior percentagem de óleos que as adultas.

1.3 - A Química dos Produtos Naturais

A parte da química orgânica que trata do estudo das estruturas moleculares e da química dos compostos produzidos pela actividade celular dos seres vivos é extremamente ampla e diversificada. Os compostos resultantes do metabolismo primário, glícidos, protídios e lípidos, são estudados, principalmente, no âmbito da bioquímica. Os produtos do metabolismo secundário, compostos terpênicos, alcalóides, glicosídios etc, são estudados no âmbito do que se convencionou denominar Química dos Produtos Naturais.

A Química dos Produtos Naturais tem por objectivo imediato o esclarecimento e registo dos constituintes resultantes do metabolismo secundário dos seres vivos, através de seu isolamento e elucidação de suas estruturas moleculares. Embora compreenda o estudo da composição química de animais e vegetais, é nos campos da fitoquímica e indústrias diversas como a de perfumes, que se encontra o maior interesse deste ramo de Química.

A importância científica das pesquisas desenvolvidas nesta área traduz-se tanto pelos resultados obtidos com a consecução de seus objectivos imediatos (são hoje conhecidos milhares de compostos naturais), como pela aplicação imediata destes resultados a outras áreas científicas correlatas. O crescente desenvolvimento de novas técnicas analíticas, como a *Cromatografia*, e o constante aperfeiçoamento dos instrumentos de análise espectrométrica têm na química de produtos naturais, ao lado da bioquímica, sua principal força motora. [1]

1.4 - Os Óleos Essenciais

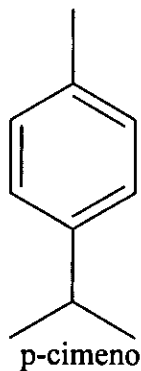
Aproximadamente, todas as espécies de Eucalipto possuem glândulas produtoras de óleos nas suas folhas. Estes óleos emprestam às plantas (folhas) o seu cheiro característico. São os chamados *óleos essenciais*, compreendendo um grande número de óleos naturais.

Importa ressaltar que estes, existem em qualquer parte da planta, desde a raiz, folhas, flores, caule, frutos, etc. São oleosos, odoríferos e quase todos são líquidos [13]. A sua importância reside justamente no seu uso. Pelo facto de ser muito variada e rica a sua composição, é também vasta a aplicação dos *óleos essenciais*, de acordo com a sua composição quantitativa e qualitativa. Das suas aplicações mais correntes, podem ser indicadas as utilizações na indústria farmacêutica, perfumes, saboerias, manufactura da Cânfora, insecticidas, solventes e plasticizantes [10].

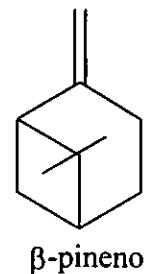
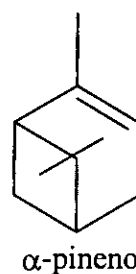
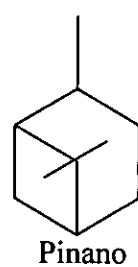
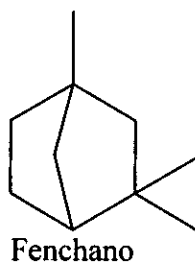
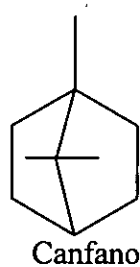
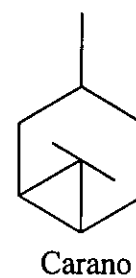
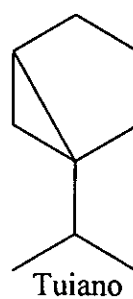
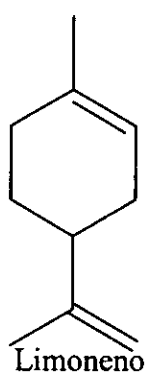
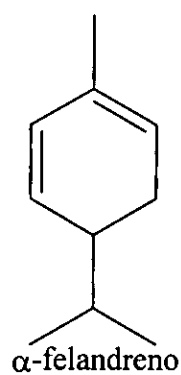
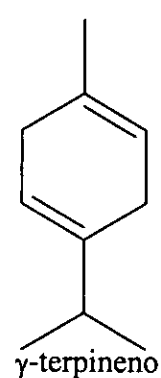
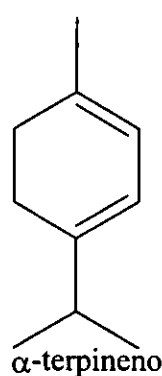
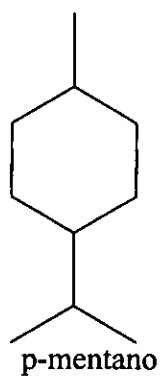
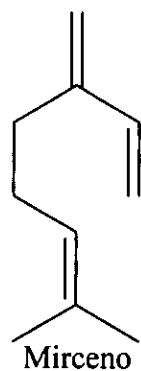
Os óleos essenciais são, em geral, misturas de compostos voláteis de natureza química diversa. Compostos naturais como hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos e terpênicos, e seus derivados, álcoois, fenóis, éteres fenólicos, ésteres, aldeídos, cetonas e óxidos, são os constituintes mais abundantes.

Eis alguns constituintes comuns dos óleos essenciais:

Hidrocarbonetos aromáticos



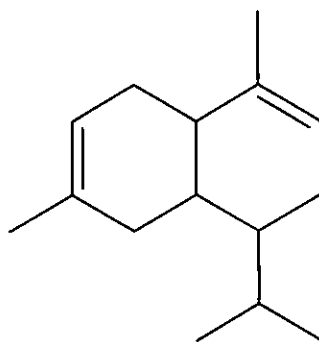
Hidrocarbonetos terpénicos acíclicos, cíclicos e policíclicos



[20]

1.5 - Os Compostos Maioritários e Suas Propriedades

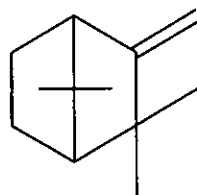
1 - δ -cadineno $C_{15}H_{24}$



$$M = 204.34; P.Eb = 274.5^{\circ}C \text{ (760 atm)}; d_{20} = 0.9819; n_D^{20} = 1.5079; [\alpha]_D^{20} = 130^{\circ}$$

É um sesquiterpeno amplamente distribuído na natureza e é um líquido incolor com cheiro agradável. Ocorre nas formas *dextrógera* e *levógera* e é encontrado nos óleos dos *juníperos* e dos *cedros*. [5]

2 - Canfeno $C_{10}H_{16}$ É o 3,3-dimetil-2-metileno canfano.

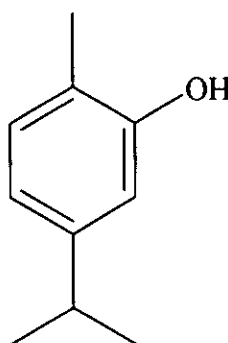


$$M = 136.24; P.Fus = 51 - 52^{\circ}C; P.Eb_{760} = 158.5 - 159.5$$

$$d_4^{54} = 0.8422; n_D^{54} = 1.45514; [\alpha]_D^{20} = + 103^{\circ} \text{ (d-forma)}$$

É um terpeno constituinte de certos *óleos essenciais*, usa-se na medicina e na manufactura de cânfora sintética. Ocorre sob a forma de cristais incolores, é insípido, solúvel em éter, ciclohexano, dioxano e clorofórmio, pouco solúvel no álcool e insolúvel na água. Prepara-se a partir do pineno por isomerização (usando sílica como catalizador), [15], [25], [26].

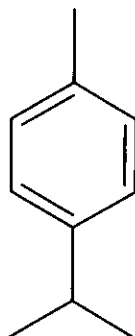
3 - Carvacrol. É o 2-metil-5-isopropil fenol, isopropil-o-cresol ou 2-hidroxi-p-cimeno.



$$M = 150.22; P.Fus = 1^{\circ}C; P.Eb = 237.7 - 101-2^{10}; d = 0.97720 \text{ }^{20/4}; n_D^{54} = 1.5230^{20}$$

É um álcool oleoso, incolor e denso, com odor a timol. É insolúvel na água, solúvel em álcool, éter e álcalis. É combustível e tem baixa toxicidade. Obtém-se do p-cimeno por sulfonação, seguida de fusão alcalina. Usa-se em perfumes, fungicidas, desinfectantes e aromatizante [5], [15], [25].

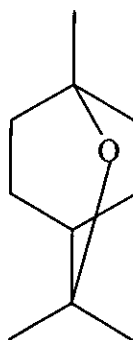
4 - **p-cimeno** Cimol, isopropil tolueno, metil propil benzeno ou 1-metil-4-isopropil benzeno



$M = 134.22$; $P.Fus = -67.9$; $P.Eb = 177.1 - 56.3^{10}$; $d_4^{20} = 0.8573$; $n_D^{20} = 1.4909$

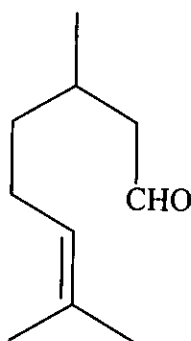
É um líquido incolor, transparente, com odor aromático e combustível. É solúvel em álcool, éter e clorofórmio, insolúvel em água. A mistura de cimeno é produzido pela alquilação do tolueno. Ocorre nos *óleos essenciais* e pode ser obtido por desidrogenação de terpenos monocíclicos. Usa-se como solvente, manufactura de resinas sintéticas, polimento de metais e sínteses orgânicas [15], [25], [26].

5 - **1,8-cineol** $C_{10}H_{18}O$



$M = 154.24$; $P.Fus = 1 - 2^\circ C$; $P.Eb = 174 - 177^\circ C$; $d^{25} = 0.921 - 0.923$; $n_D^{20} = 1.4500 - 1.4600$

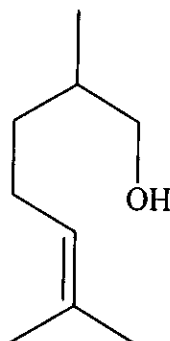
É combustível, incolor e oleoso, sabor picante e gelado, cheiro forte a cânfora, moderadamente solúvel na água, miscível com o álcool, clorofórmio, éter, ácido acético glacial e em óleos fixos ou voláteis. Obtém-se por destilação fraccionada de óleos de eucalipto e usa-se como fármaco (xarope para tosse, expectorante), aromatizante e em perfumaria [3], [15], [25], [26].

6 - Citronelal $C_{10}H_{18}O$ 3,7-dimetil oct-6-(ou 7) - enal

$$M = 154.25; P.Eb = 207 - 8, 79 - 81^{10}; d = 0.8535^{17/4}; n_D^{20} = 1.4473; [\alpha]_D^{20} = -15^\circ$$

É o principal constituinte do óleo de citronela através do qual se obtém. É um líquido incolor ou ligeiramente amarelado, odor intenso de limão doce. Moderadamente solúvel na água, solúvel no éter e álcool. É combustível e não tóxico. Usa-se na perfumaria e como aromatizante [3], [15], [25], [26].

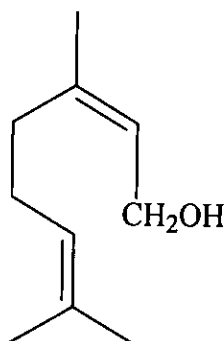
7 - Citronelol 3,7-dimetil-6(ou 7)-octen-1-ol



$$M = 156.27; P.Eb = 244^\circ C (760mm Hg) - 99^{10}; d = 0.8560^{20/4}; n_D^{20} = 1.4543; [\alpha]_D^{20} = -1^\circ 30' a 5^\circ$$

É encontrado em vários óleos voláteis. Usualmente é obtido pela ação da amálgama de sódio sobre o citronelal. É um líquido oleoso com cheiro a rosa. Muito pouco solúvel na água, miscível com o éter e álcool. Combustível e de baixa toxicidade. Usa-se na perfumaria e como aromatizante. [15], [25], [26]

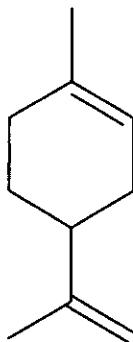
8 - Geraniol 3,7-dimetil-2,6-octadieno-1-ol



$$M = 154.25; P.Fus = < -15^\circ C; P.Eb = 230 - 121^{18}; d = 0.8894^{20}; n_D^{20} = 1.4766$$

É um álcool terpénico. Óleo incolor a pálido amarelo, líquido com um agradável cheiro a *gerânio*. É solúvel em álcool, éter, óleo mineral e nos óleos fixos, insolúvel em água e glicerol. É combustível e não tóxico. É derivado do *óleo de citronela (Java)* e sinteticamente a partir do pineno. Usa-se nas perfumarias, como aromatizante e como fonte de linalol. [5], [15], [25]

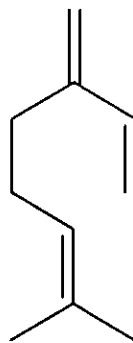
9 - Limoneno ou Dipenteno $C_{10}H_{16}$ p-menta-1,8-dieno



$$M = 136.24; P.Fus = -95.5^{\circ}C; P.Eb = 178.64 \text{ } 4^{15}; d = 0.8402^{21/4}; n_D^{20} = 1.4727^{20}$$

Obtém-se de óleos essenciais como limão, laranja e outros. É um líquido incolor e usa-se como aromatizante, fragância e material de perfumes, como solvente e na manufactura de resinas. É insolúvel na água, mas miscível com álcool. [3], [5], [15], [25]

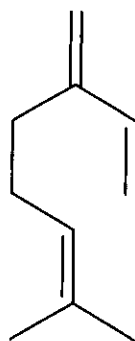
10 - Linalol 3,2-dimetil-1,6-octadieno-3-ol



$$M = 154.24; P.Eb = 195 - 199^{\circ}C; d_{25^{\circ}C} = 0.858 - 0.868; [a]_D^{20} = -2^{\circ} \text{ a } +2^{\circ}$$

O linalol é o l-isómero e o coridandrol é o d-isómero. É um líquido incolor com odor semelhante ao óleo de vergamota, solúvel em álcool, éter, óleos fixos, combustível e não tóxico. É obtido a partir de muitos óleos essenciais, particularmente dos de rosa, madeira de linaloe, vergamota e outros. Obtém-se sinteticamente a partir do Geraniol e é usado em perfumaria e como agente aromatizante. [5], [15]

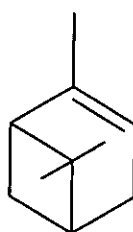
11 - Mirceno $C_{10}H_{16}$ É o 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno



$$M = 136.24; P.Eb = 167.65^{20}; d = 0.8013^{15/4}; n_D^{20} = 1.4722$$

É um hidrocarboneto aromático insaturado (triplo) encontrado em vários óleos. É amarelo, oleoso, com odor agradável, é insolúvel na água, solúvel no álcool, clorofórmio, éter e no ácido acético glacial. É combustível, usa-se como aromatizante e na preparação de perfumes químicos. [15], [25]

12 - α -pineno $C_{10}H_{16}$ 2,6,6-trimetil biciclo[3.1.1.] 2-hepteno

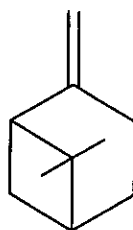


$$M = 136.24; P.Fus = -55; P.Eb = 156, 51.4^{20}, 2760$$

$$d_4^{20} = 0.8582; n_D^{20} = 1.4663; [\alpha]_D^{20} = + 51.14^\circ$$

É um hidrocarboneto terpénico, constituinte de muitos óleos voláteis. Líquido transparente e incolor com odor característico da turpentina. É Insolúvel na água mas solúvel no álcool, clorofórmio, éter e ácido acético glacial. Usa-se na obtenção da cânfora, insecticidas, solventes, plasticizantes, bases de perfumes, óleo sintético de *pinus*, canfeno, geraniol, hidrato de terpina, terpeneol, ésteres e éteres terpénicos, resinas sintéticas e seus derivados, aromatizante e odorizante. [15], [25], [26]

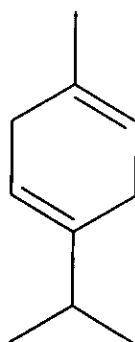
13 - β -pineno é o Nopineno $C_{10}H_{16}$



$$M = 136.24; P.Eb = 164 - 6, 59.7^{20}; d = 0.8654^{20/24}; n_D^{20} = 1.4789; [\alpha]_D^{20} = + 28.6^\circ$$

É um hidrocarboneto terpénico, líquido transparente e incolor, com odor a terpeno e combustível. Usa-se na obtenção de resinas politerpénicas e pode ser usado como substituto do α -pineno. É intermediário para perfumes e aromatizantes. [15], [25]

14 - γ -terpineno $C_{10}H_{16}$ 1-isopropil-4-metil-1,4-ciclohexadieno



$$M = 136.24; P.Eb = 183; d = 0.849^{20/24}; n_D^{20} = 1.4831^{20}$$

É encontrado no coriandro, limão, cumina e nos óleos de Ajuan. Tem cheiro a limão, insolúvel na água, miscível com o álcool e éter. [3], [5], [15], [25]

1.6 - Noções Gerais de Cromatografia

É um método de análise química que se fundamenta na propriedade que têm os sólidos pulverizados de adsorver selectivamente as diferentes substâncias. Se se fizer escorrer, através de uma coluna de material adsorvente (caulino), uma mistura líquida, os seus componentes podem ser adsorvidos em zonas distintas da coluna, ficando separadas. [27]

1.6.1 - Teoria Cromatográfica

A cromatografia reúne um grupo de métodos de separação distintas. Como fenómeno em si, consiste na distribuição da substância que se separa em duas fases, uma das quais é relativamente imóvel (ou estacionária) e outra que se move ao longo desta (móvel). A fase estacionária, é constituída por uma substância de grande dispersão e superfície. A diferença entre os componentes pode ser expressa pelas diferenças relativas das distâncias percorridas num determinado período, comparadas com a da fase móvel que é um valor referencial ou o tempo de retenção (T_r). Estes valores são constantes para um composto quando há reproducibilidade de condições de trabalho.

Há diversas formas de levar a cabo as separações cromatográficas. Os três tipos gerais são: Separação por eluição, afastamento e frontal. A cromatografia pode ser dividida em número de áreas. Esta classificação está relacionada com a natureza das fases estacionária e móvel [6].

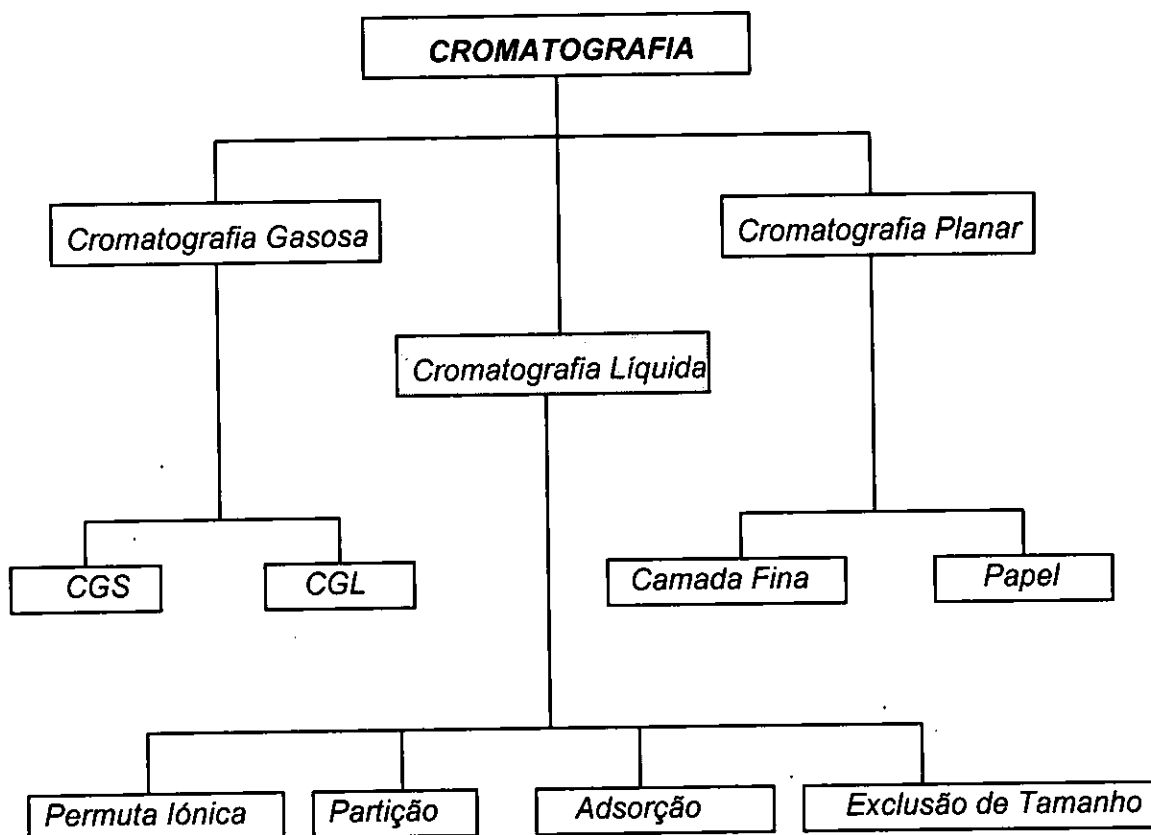


fig.3 - Esquema Cromatográfico

1.7 - Cromatografia de Camada Fina (CCF)

A CCF tem lugar numa placa fina de fase estacionária encontrando-se a amostra sobre um portador. Dependendo da composição e do tipo do solvente, a separação das substâncias pode ser baseada em mecanismo de adsorção, distribuição ou troca iónica.

As características da placa cromatográfica devem ser tais que permitam reproducibilidade dos resultados da separação, uma grande velocidade do solvente (10mm/min) e que seja homogénea quanto à espessura da superfície.

Na CCF a gota de amostra é aplicada na base da placa. Quando a fase móvel sobe, a amostra é com ela arrastada. Cada componente move-se com a fase móvel em conformidade com a sua afinidade para com a fase estacionária e para com a fase móvel. Os compostos com elevada afinidade para com a fase móvel mover-se-ão rapidamente e os que a tiverem mais alta em relação à fase estacionária não irão longe da origem. Isso permite a separação da amostra em manchas individuais.

Os coeficientes de distribuição são difíceis de calcular podendo-se contudo, medir as distâncias percorridas por cada mancha e pela fase móvel.

Podem calcular-se deste modo os valores de R_f

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pela mancha}}{\text{Distância percorrida pela frente do solvente}} \quad (1)$$

O Valor de R_f de um dado composto é constante para uma dada fase estacionária e mistura de fase móvel quando há reciprocidade de condições. Como tal seja difícil, em geral aplica-se um padrão de comparação ao lado da amostra para melhor identificação dos componentes. [7]

1.7.1 - Vantagens da CCF

O instrumento que se precisa, geralmente, é mais simples que para os outros métodos e menos caro que o equipamento da CFG. O tempo que se necessita para conseguir as separações é muito menor que com Papel e Coluna; a separação é geralmente melhor. É possível aplicar sobre as placas uma grande variedade de reactivos para revelar, de natureza corrosiva, que destruiriam os cromatogramas de papel; os adsorventes inorgânicos não fluorescentes usados em CCF permitem um maior contraste das manchas fluorescentes que sobre o papel.[7]

1.7.2 - Material básico e Técnica Geral

1.7.2.1 - Aplicação das amostras - Os produtos a examinar dissolvem-se, quando é possível, num dissolvente orgânico não polar com ponto de ebulição suficientemente baixo para que se evapore depois da aplicação. A distância mínima preferível entre as amostras é de 1cm.

1.7.2.2 - Desenvolvimento das placas - O desenvolvimento dos cromatogramas em camada fina faz-se normalmente pelo método ascendente, isto é, permitir que um eluente (mistura) ascenda por uma placa quase em posição vertical, pela acção da capilaridade.

Geralmente, o eluente é colocado na câmara, pelo menos, uma hora antes do início da operação, para permitir a saturação da atmosfera. O tempo de desenvolvimento, em geral, não chega aos 30 minutos. As placas podem ser mantidas durante um tempo pré-fixado, e transcorrido, deve marcar-se a posição do eluente. Usa-se uma distância fixa para conseguir a standarização dos valores R_f . Frequentemente esta distância é de 10cm que é a conveniente para medir os valores de R_f . Depois, as placas podem secar-se rapidamente com uma corrente de ar quente. Isto é também importante para que se mantenha reduzido o tamanho da mancha durante a colocação das amostras.

1.7.2.3 - Reproducibilidade de valores R_f - O valor R_f é simplesmente uma maneira de expressar a posição de um composto sobre uma placa como uma fracção decimal.

1.7.3 - Reactivos Reveladores - A maioria de compostos separados por CCF são incolores; para se localizarem existe uma série de diferentes reactivos.

No caso presente, usou-se uma combinação de ácido sulfúrico, vainilina e etanol. Usam-se lâmpadas ultravioleta pois muitos compostos podem ser localizados já que absorvem a luz ultravioleta ao redor de 254 m μ [7].

1.7.4 - Avaliação da Resolução da Coluna

1.7.4.1 - Verificação Das Substâncias Reveladas

Para verificar se as substâncias reveladas numa placa podem ser separadas por coluna, é necessário verificar se a condição expressa na fig.4 é aplicável, usando a fórmula seguinte.

$$R = \frac{R_{fa}}{R_{fa} + 0.1R_{fb}} > 1 \quad (2)$$

A e B - manchas vizinhas
 R_{fa} - Rf da substância mais rápida
 R_{fb} - Rf da substância mais lenta

$$R_{fa} = \frac{40}{60} = 0.67$$

$$R_{fb} = \frac{38}{60} = 0.63$$

$$R_{fc} = \frac{34}{60} = 0.57$$

$$\frac{A}{B} R = \frac{0.67}{0.63 + 0.07} < 1$$

$$\frac{A}{C} R = \frac{0.76}{0.57 + 0.07} > 1$$

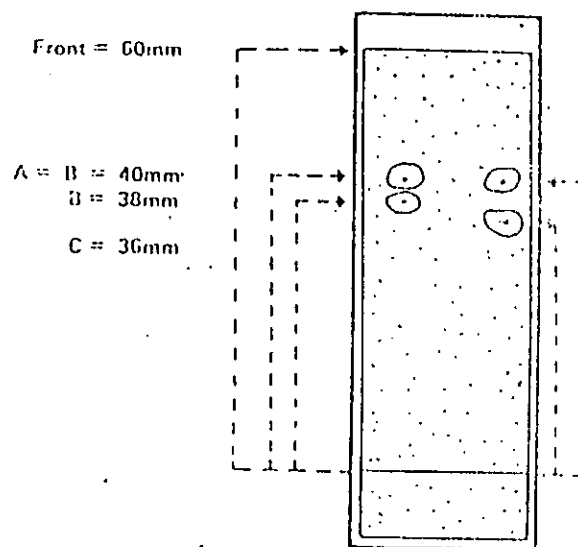


Fig.4 - Avaliação da resolução da coluna por meio da relação dos valores de Rf em cromatoplaça. No exemplo A e B não são separáveis, enquanto que A e C podem ser separados por Cromatografia em Coluna [1].

1.8 - Cromatografia em Fase Gasosa - CFG

A Cromatografia em Fase Gasosa é um método de análise que se aplica a compostos gasosos ou susceptíveis de serem vaporizados por aquecimento sem decomposição. Ela permite assim a análise de misturas de natureza eventualmente complexa e de diversa volatilidade. O seu domínio essencial é a análise de compostos orgânicos tendo contudo uma elevada aplicação na química inorgânica. [27]

Podem ser distinguidos dois métodos:

CGL - Cromatografia gás-líquido - A fase estacionária é um líquido viscoso revestido num material de suporte.

CGS - Cromatografia gás-sólido - A fase estacionária é um material sólido, às vezes de natureza polimérica [6]

1.8.1 - Princípio do Método

Um sistema de gás cromatografia encontra-se esquematicamente representado na figura abaixo e consiste do seguinte:

- Tubo de gás de arrastamento (1)
- Válvula (2)
- Manómetros (3 e 4)
- Controladores de fluxo (5 e 6)
- Injector (7)
- Forno (8)
- Coluna (9)
- Detector (10)
- Programador linear da temperatura (11)
- Saída do sinal para o registador (12)

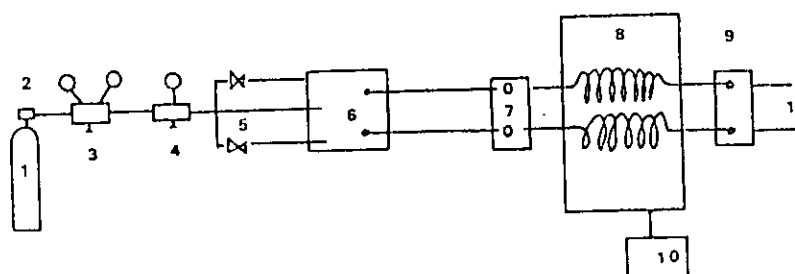


fig5 - Esquema de um sistema de CFG[1]

1.8.2 - Introdução e Descrição

A CFG é fundamentalmente uma técnica para a separação de compostos voláteis, com a utilização de uma coluna separadora especial. A separação realiza-se com o emprego das diferenças de coeficiente de partição dos produtos a separar. Essa partilha tem lugar entre um gás e um líquido (ou sólido). Em ambos os casos, o gás é a fase que se move através da coluna. O componente básico de qualquer sistema cromatográfico é a coluna (nº8 da fig.5), que pode ser de vidro ou aço inoxidável. Uma coluna normal tem um diâmetro interno de 4mm e o comprimento pode variar de 10cm a 20m em alguns casos.

Usualmente, opera-se com a coluna a uma temperatura fixa que pode ser de uns 350°C. A escolha de temperatura depende da volatilidade da fase líquida utilizada e da separação requerida. Durante a operação, um gás portador e inerte passa continuamente através da coluna. Os gases portadores mais usados são o N, Ar, He e H. É de preferência o N a não ser que o detector requera um outro gás. O gás que emerge das colunas passa por um detector que emite um sinal eléctrico, proporcional à concentração de qualquer composto presente nele. O sinal eléctrico, geralmente de 0 -1 mV, é recebido num registador potenciométrico sobre uma tira de papel, girando a uma determinada velocidade.

1.8.3 - O Cromatograma - É o gráfico obtido no registor, resultado de uma análise cromatográfica. A partir dele, faz-se a leitura dos resultados tanto em análise qualitativa como quantitativa.

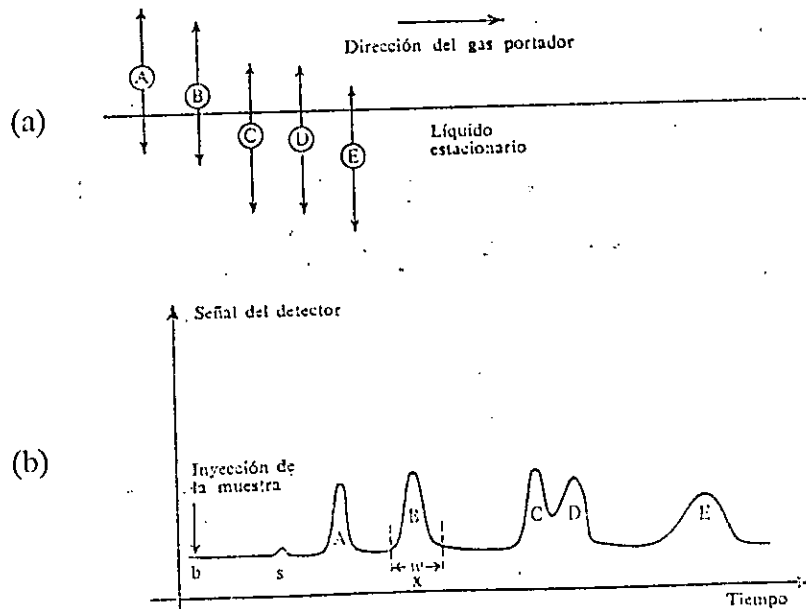


fig.6 - a) Representação esquemática do coeficiente de partição.
b) Cromatograma esquemático de uma mistura de cinco componentes [7].

Vamos supor que necessitamos de separar em uma coluna uma mistura que contém 5 componentes A, B, C, D e E. O método de separação consiste em injetar uma pequena quantidade, 0,2µl por exemplo, no empacotamento do extremo da coluna com uma seringa que perfura uma membrana de borracha situada na entrada da dita coluna. Esta quantidade de amostra evapora-se; a mistura é arrastada através da coluna, pelo gás portador. Cada um dos componentes é retardado (a sua velocidade através da coluna), pela fase líquida estacionária (fig.6.a). Cada componente representa-se por uma seta vertical, sua tendência a dissolver-se (representada pelo seu coeficiente de partição) vem indicada pela parte da seta introduzida dentro do líquido estacionário. O componente (A) é o que se dissolve menos e (E) o que se dissolve mais. O gás portador actua mais fortemente sobre os compostos que não se dissolvem no líquido, os quais são arrastados através da coluna de maneira que (A) emerge antes de (B), este antes de (C), assim por diante, com o sinal produzido pelo detector fazendo um registo (fig.6 b).

Existem várias características que explicam as propriedades fundamentais da técnica. Podemos comentá-las com base neste registo.

1 - Se a mesma amostra se injeta outra vez na mesma coluna, nas mesmas condições de temperatura e velocidade de fluxo do portador, o resultado obtido é o mesmo.

2 - (a) Se se injeta o componente (B) puro em vez de uma mistura, o resultado é um único pico na mesma posição que (B).

(b) Se se injecta uma mistura desconhecida que produz um pico na mesma posição que (B), este pico pode ser dividido a:

- (I) componente (B) na mistura desconhecida,
- (II) outro composto ("L") que tem o mesmo tempo de retenção que "B",
- (III) outros compostos ("L", "M", "N") que têm todos o mesmo tempo de retenção que "B", pelo que aparecem como um pico único.

3 - Para obter esta separação com a amostra da mistura A, B, C, D, E, tomam-se os seguintes parâmetros:

A fase líquida da coluna e sua temperatura, as características físicas do material da coluna, a velocidade de fluxo de gás portador e o comprimento da coluna. Se a amostra A, B, C, D, E, desenvolve-se numa coluna com uma fase líquida distinta separar-se-á também de forma distinta. A escolha de uma fase líquida diferente numa coluna, pode ser o único sistema prático de separação dos picos C e D.

4 - Se o detector dá um sinal que corresponde linearmente à concentração do componente que passa através de si, a área do pico produzido é proporcional à quantidade de composto injectado na coluna. Portanto, a área de B é proporcional à sua concentração na mistura.

5 - Se a velocidade de fluxo do gás portador reduz-se à metade, o tempo de emergência de todos os picos (quer dizer, entre 0 e a aparição do pico) será o dobro. A largura dos picos não será afectada necessariamente da mesma forma; pode ser maior ou menor que o dobro da sua largura original; ele depende das propriedades da coluna usada.

6 - Se se diminui a temperatura da coluna, os tempos de retenção provavelmente aumentarão, pelo que ele afectará cada componente de uma forma distinta. Por exemplo, uma redução de 50°C na temperatura pode duplicar o tempo de retenção de D e dar só um aumento de 50% em caso de C. Baixar a temperatura da coluna pode ser um método de separação de C e D.

7 - Se se aumenta a temperatura da coluna é quase seguro que o tempo de retenção diminui. Por exemplo, um aumento de temperatura de 50°C pode significar que os componentes A, B, C e D quase se confundem e têm um tempo de retenção curto, quase o mesmo que a posição original de A. O componente E pode ser agora o único separado imediatamente depois do outro grupo de quatro.

8 - Se se elabora a coluna com uma dupla quantidade de líquido estacionário distribuído ao longo dela, por exemplo 20g em vez de 10g, então o tempo de retenção de cada pico se duplica. A largura do pico pode não variar analógicamente, quer dizer, ser superior ou inferior a duas vezes a largura original, pelo que depende de outras propriedades da coluna.

Para a identificação de compostos, requiere-se uma amostra pura do composto "desconhecido", a fim de confirmar esta identificação. Na prática, a CFG não se usa como uma técnica de identificação sem se dispor de um outro meio de informação. É, sem dúvida, um método de separação ideal para a

preparação de amostras puras para outras técnicas de análise qualitativa mais adequadas. Neste sentido se têm usado ampliadamente a espectrometria de massa (EM), e a espectrometria infravermelha, ultravioleta e de ressonância magnética nuclear, para amostras preparadas por CFG.

O principal uso da CFG é no caso da análise quantitativa. Há em uso um grande número de cromatógrafos que têm adaptada sempre a mesma coluna, onde se injectam com regularidade amostras que diferem unicamente nas proporções dos compostos presentes.

Outras variações básicas da técnica, que compreendem a programação da temperatura da coluna ou do fluxo do gás portador, ou seja, das condições da coluna, podem ser mais adequadas para a separação de compostos, especialmente nos produtos naturais, e que pode dar uma ampla gama de componentes.

1.8.4 - Anomalias dos Cromatogramas e Sugestões

1.8.4.1 - Baixa resolução

Os picos não estão bem separados e aparecem em tempo reduzido. É necessário aumentar a temperatura do forno.

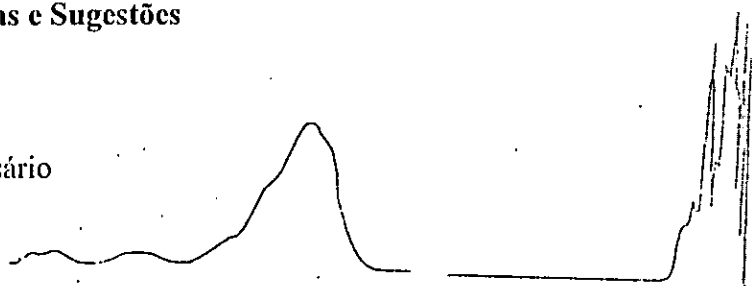


fig.7 - Baixa resolução

1.8.4.2 - Resolução inadequada

Acontece quando o cromatograma não tem a resolução requerida. A solução pode ser:

- mudar a relação de fluxo do gás transportador;
- usar uma coluna mais comprida;
- reduzir a quantidade da amostra.

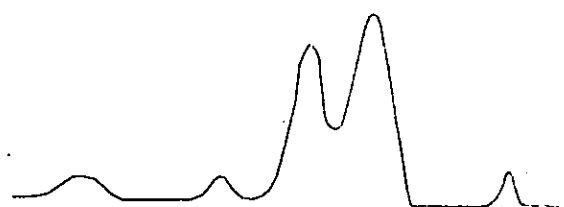


fig.8 - Resolução inadequada

1.8.4.3 - Picos assimétricos

Normalmente são originados por uma sobrecarga da coluna. Para a sua correcção deve ser usada uma maior quantidade de fase estacionária ou reduzir o tamanho da amostra.



fig.9 - Picos assimétricos

1.8.4.4 - Picos com cauda

Podem ser causados por falta de perícia na injeção da amostra. Deve-se usar colunas com inibidores de cauda como é o caso do dimetildiclorosilano.

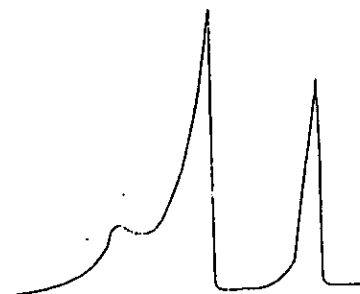


fig.10 - Picos com cauda

1.8.4.5 - Separação boa mas tempos de retenção longos

Elevar a temperatura do forno, reduzir a carga da fase estacionária, usar uma coluna mais curta.

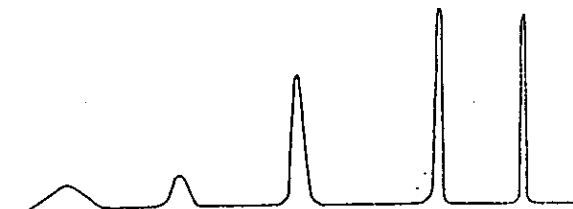


fig.11 - Separação boa mas Tr longos

1.8.4.6 - Picos não resolvíveis

É necessário usar um programador de temperatura de modo que ela suba gradualmente.

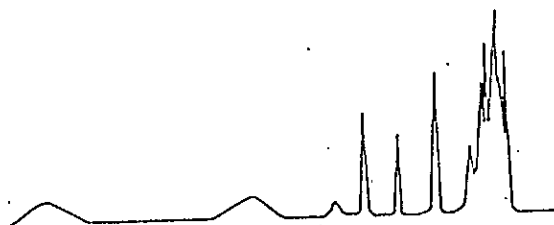


fig.12 - Picos não resolvíveis

1.8.4.7 - Picos pequenos

Aumentar o tamanho da amostra ou a sua concentração antes da injeção.



fig.13 - Picos pequenos

1.8.4.8 - Picos falsos

Podem ser originadas pela decomposição da fase estacionária, contaminantes de septos ou serem componentes de uma amostra recém analisada. Por outro lado, quando uma amostra está muito diluída, ao passar da coluna pode deslocar impurezas presentes na fase estacionária provocando a formação de picos falsos, que podem ser também devidos à decomposição da amostra durante a análise.

1.8.5 - Definições e Teoria Fundamental

1.8.5.1 - O volume de retenção (não corrigido), V_r - é o volume do gás portador que sai da coluna até o momento em que emerge o máximo do pico e é dado por

$$V_r = T_r \cdot F_c \quad (3)$$

Onde T_r é o tempo de retenção. O tempo de retenção é o que tarda em emergir o máximo de pico, contando a partir da injeção da amostra (distância OX para o componente B na fig. 6 b). F_c é o caudal do gás portador, medido à temperatura e pressão da saída da coluna. As medidas do volume de retenção realizam-se, como uma ajuda na identificação dos picos.

1.8.5.2 - O volume morto V_m - é o volume de gás que cabe na coluna. Pode determinar-se com a medição do volume de retenção de um gás absorvido, por exemplo, o ar.

1.8.5.3 - O volume de retenção corrigido V_r' - é dado por

$$V_r' = V_r - V_m \quad (4)$$

(Distância SX na fig.6 b)

1.8.5.4 - O volume de retenção absoluto V_n - é dado por

$$V_n = j V_r' \quad (5)$$

$$\text{Onde } j = \frac{3}{2} \left[\frac{(P_i / P_o)^2 - 1}{(P_i / P_o)^3 - 1} \right] \quad (6)$$

P_i = pressão do gás portador na entrada da coluna

P_o = pressão do gás portador à saída da coluna

1.8.5.5 - O volume de retenção específico V_g - é dado por

$$V_g = \frac{V_n}{W_L} \frac{273}{T} \quad (7)$$

onde T é a temperatura absoluta da coluna

W_L = peso em gramas do líquido da coluna

Este é um dos parâmetros da CFG e é constante para umas dadas condições. O efeito do peso do líquido da coluna sobre o volume de retenção pode observar-se claramente a partir da fórmula

1.8.5.6 - Relações de retenções relativas

$$r_{ab} = \frac{V_{g_a}}{V_{g_b}} \quad (8) \quad \text{Onde os subíndices se referem aos componentes a e b.}$$

Estes valores podem ser muito mais úteis, já que podem determinar-se em uma coluna em idênticas condições, do que os valores absolutos de V_g que são mais difíceis de utilizar.

1.8.5.7 - O coeficiente de partição K - é dado por

$$K = \frac{\text{Peso.do.soluto.por..mililitro.do.líquido.estacionário}}{\text{Peso.do.soluto.por.mililitro.do.gás.portador}} \quad (9) \quad \text{e} \quad K = \frac{V_n}{V_L} \quad (10)$$

onde V_L é o volume do líquido na coluna

1.8.5.8 - Altura equivalente a um prato teórico.

Para expressar, cientificamente, o rendimento de uma coluna para produzir picos, calcula-se o número de pratos teóricos (n), como se segue:

$$n = 16 \left(\frac{d}{w} \right)^2 \quad (11)$$

d = distância de retenção

w = 2 x largura do pico na semialtura.

A altura equivalente a um prato teórico (H) é dada por: $H = \frac{l}{n} \quad (12)$

l é o comprimento da coluna. [7]

1.8.6 - Avaliação Quantitativa

Existem vários métodos para a avaliação quantitativa: de Normalização de Áreas, de Normalização de Áreas Corrigidas, de Padrão Interno, de Padrão Externo, de Incremento de Concentração (adição), tendo cada um deles as suas vantagens e desvantagens.

1.8.6.1 - Método do Padrão Externo

Este método consiste em preparar padrões com grande precisão e dos quais são analisadas quantidades conhecidas com exactidão. Calcula-se a resposta absoluta do detector para cada padrão, com base na unidade de área de pico por unidade de peso da substância analisada.

A vantagem, só leva em conta a eluição e detecção dos compostos que interessam e os inconvenientes são o facto de o método não admitir variações dos parâmetros experimentais e o tamanho da amostra injectada e a sua concentração têm de ser controladas com grande exactidão. [8]

1.8.7 - Detectores

1.8.7.1 - Requisitos gerais - Os requisitos gerais de um detector de CFG para análises quantitativas

a) Grande sensibilidade. A sensibilidade é a medida de resposta do sinal do detector por unidade de amostra. Ela é afectada pelo ruído que é devido a sinais eléctricos produzidos pelo sistema do detector. Se a proporção sinal/ruído é igual à unidade, então, torna-se impossível detectar o pico cromatográfico. Esta proporção deve ser no mínimo de dois.

b) Um sinal externo que seja função linear da concentração da amostra no detector.

c) Uma resposta linear incluso com altas concentrações, ou seja, que se requer em certos momentos uma baixa sensibilidade. O sinal de saída do detector deve ser proporcional à quantidade do componente que se pretende detectar. Existe um limite acima do qual esta linearidade não se observa [7]

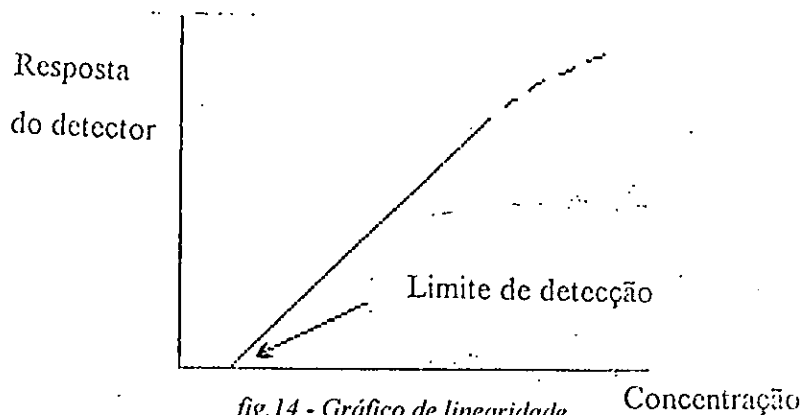


fig.14 - Gráfico de linearidade

- d) Factores de resposta, previsíveis para todos os compostos a analisar.
- e) Resposta para os compostos cuja análise se quer fazer.
- f) Ausência de resposta para aqueles compostos cuja análise não se quer fazer.
- g) Capacidade de actuar na máxima temperatura da coluna, por exemplo, a 350°C.
- h) Fácil manejo.

1.8.7.2 - Tipos de Detectores

Existem muitos tipos de detectores como por exemplo:

- a) - Detector de Ionização na Chama;
- b) - Detector de Condutividade Térmica;
- c) - Detector de Captura de Electrões;
- d) - Detector de Secção Transversal;

- c) - Detector de Ionização de Árgon;
- f) - Balança de Densidade de Gases;
- g) - Detectores por Descarga Excitada de Microondas;

1.8.7.3 - O Detector FID

É o usado no presente trabalho. Sua principal virtude é a resposta linear com um intervalo de 1.00×10^7 . O que significa que se põe a sua maior sensibilidade de maneira que a linha de base encontra-se à volta de 1% do *signal de fundo*, esta sensibilidade pode estar reduzida por um factor de 10^5 e dar, todavia, uma resposta linear ao longo da escala do registador.

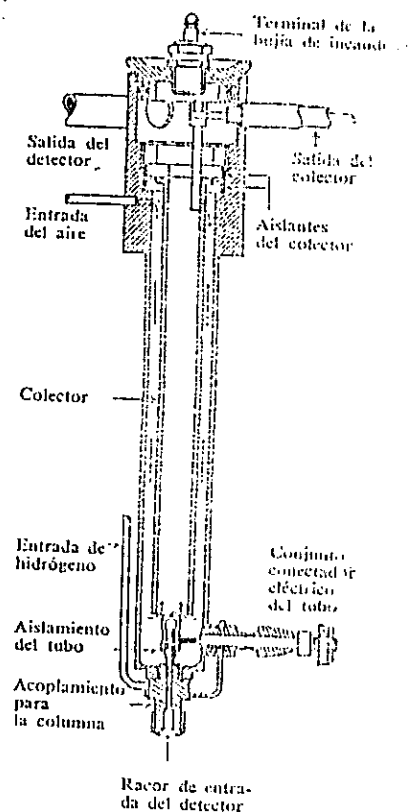


fig. 15 - Sección do Detector de ionização da chama (FID) [7]

Na fig.15 temos o esquema de um detector. O gás portador da coluna mistura-se com o hidrogénio e arde no tubo. O ar da combustão é insuflado pela parte externa do eléctrodo colector e os produtos da combustão são expulsos através do centro do eléctrodo.

Com um bom detector, limpo, amostras de gás puras, pode alcançar-se um sinal de fundo da ordem de 1.00×10^{-14} A, se bem que na prática, resulta difícil. A sensibilidade do sistema detector altera-se quando muda-se o intervalo da medida do amplificador. Os amplificadores de uso corrente vão, desde uma máxima sensibilidade de 1.00×10^{-12} A para toda a escala até 2.00×10^{-7} A, que é o limite do intervalo linear. Este detector responde aos compostos combustíveis, o que significa que quase todos os compostos orgânicos estão incluídos. Os gases inorgânicos não dão resposta; usa-se geralmente o Nitrogénio e o Árgon como portadores, conservados (incluindo os restantes) em recipientes a pressão elevada [7].

1.8.8 - A Coluna

Existem colunas gás-líquido, gás-sólido e de tubo aberto. As de gás-sólido são as que usam um sólido activo como material de suporte. A quantidade da amostra aplicada na coluna afecta os resultados. Geralmente, as amostras menores dão melhores resultados.

1.8.8.1 - Colunas gás-sólido

Geralmente, estas colunas estão repletas de um dos seguintes materiais: alumina, gel de silício, copolímeros reticulares de poliestireno. Com a excepção do último, estes materiais são usadas habitualmente para separar compostos que passam rapidamente na coluna líquida a uma temperatura maior que 50°C.

As colunas gás-sólido são especialmente sensíveis a pequenos traços de impurezas adsorvidas irreversivelmente na sua superfície e que reduzem o tempo de retenção dos compostos a analisar. Este problema soluciona-se, normalmente, aquecendo periodicamente a coluna a alta temperatura a fim de reactivá-la. Os resultados obtidos nestas colunas dependem do nível de contaminação das mesmas, tanto se esta provém do gás portador como da amostra [7].

1.8.9 - O Injector

É a peça do cromatógrafo onde a acessibilidade à coluna é proporcionada e a amostra é evaporada e lançada no fluxo gasoso. O tipo de injector mais vulgar encontra-se esquemáticamente representado na fig.16 [8].

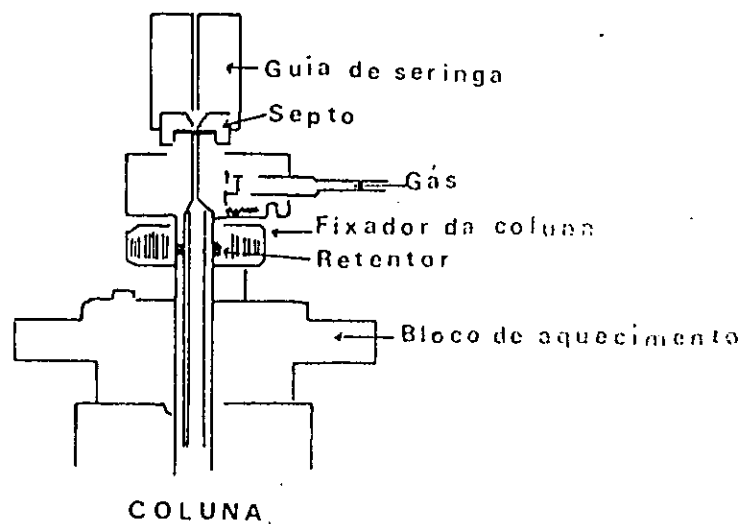


fig. 16 - Desenho esquemático de uma cabeça de injeção [8]

1.8.9.1 - Injeção da Amostra

Uma amostra líquida deve introduzir-se na coluna de tal modo que a forma do pico dependa da eficiência da coluna e não pela forma como foi introduzida a amostra. A evaporação das suas fracções mais ligeiras e mais pesadas é muito importante, pelo que se têm elaborado métodos que solucionam a questão de variação da quantidade da amostra. Geralmente, a amostra se introduz, de forma ideal, directamente na coluna, para eliminar qualquer possível interacção com os dispositivos da pré-coluna.

Usam-se microseringas (existem as de 1µl) para injectar líquidos à coluna ou a um bloco de injeção pré-aquecido. Apenas podem garantir a quantidade de amostra até uns $\pm 3\%$, a nível de 1µl, e requerem uma lavagem regular. As áreas relativas dos picos produzidos por este método dependem do sistema de injeção. [7].

1.8.9.2 - Análise quantitativa - A CFG pode ser um magnífico meio para análises precisas. Sua segurança depende da precisão com que se pode operar, o cuidado que se tenha com o trabalho experimental e de quão novo seja o material. A magnitude do esforço que se tenha adquirido dependerá da exactidão que se pretenda nos resultados.

1.8.9.3 - Determinação de áreas - As áreas determinam-se normalmente através de métodos gráficos, integradores digitais e computadores.

Os integradores digitais de vários tipos produzem uma impressão directa da área automaticamente; a maioria possui detectores muito sensíveis para medir picos parcialmente resolutos e outros métodos de registar as áreas dos picos. Os aparatos mais aperfeiçoados têm formas de corrigir os desvios da linha de base, complexos circuitos de correcção de sinais de fundo e registadores simultâneos de áreas de picos e de tempos de retenção. Dão resultados mais precisos que qualquer tipo de integração. Não se podem usar sempre, especialmente quando não se estimam (conhecem) os resultados a obter, pelo que são muito úteis em caso de repetidas análises sucessivas, especialmente se a linha de base é boa.

Podem ser usados computadores para ter em conta todas as variáveis; produzem respostas sensíveis para quase todos os tipos de amostras. Trata-se de um campo novo em desenvolvimento. [7].

1.8.9.4 - Análise Qualitativa - O uso da CFG, como técnica qualitativa, é limitado. Não pode conseguir-se uma identificação segura sem utilizar um meio auxiliar ou sem dispor de um composto puro. A maior parte do trabalho qualitativo realiza-se desenvolvendo num cromatógrafo preparativo, recolhendo os componentes e identificá-los por espectroscopia de infravermelho, espectrometria de massa (EM) ou técnicas similares.

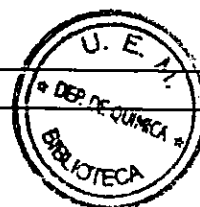
O campo de análise qualitativo e, em particular, o das combinações da CFG e técnicas qualitativas, tais como a EM, é um dos que têm actualmente maior aplicação. [7].

1.8.10 - Técnicas de Cromatografia em Fase Gasosa

Quanto ao modo de operação podem referir-se as técnicas seguintes:

1.8.10.1 - Análise Frontal - A mistura é diluída num gás e passada continuamente através da coluna. A ordem de saída dos componentes corresponde à ordem crescente das suas afinidades relativas para com a fase estacionária. Apenas o primeiro componente é nitidamente separado dos restantes, os quais se lhe seguem de tal modo que, no fim da análise, a amostra emerge da coluna com a composição inicial.

1.8.10.2 - Análise por Deslocamento - O gás é saturado com uma substância de maior afinidade para com a fase estacionária que os componentes da amostra. Deste modo, os diversos constituintes são



gradualmente deslocados e transportados pelo gás emergindo da coluna pela ordem crescente das suas afinidades com a fase estacionária.

1.8.10.3 - Análise Por Gradiente de Temperatura - A amostra é continuamente passada através da coluna a qual está envolvida por um campo térmico cujo gradiente tem o mesmo sentido de percurso da

substância [16]. Algumas misturas de ácidos gordos naturais contêm numerosos componentes que formam séries homólogas. Se esta mistura elui-se a baixa temperatura, os primeiros picos separam-se bem, mas os últimos tardam duas ou três horas para emergir como picos planos. Uma possibilidade é o aumento da temperatura para que se adeque aos últimos picos; mas com isto perde-se a separação dos primeiros. A solução deste problema está em programar a temperatura variando esta de forma contínua desde um valor baixo até outro alto em um tempo conveniente, a fim de obter a separação em pouco tempo. A temperatura da coluna estará assim mais adequada para os componentes em cada parte das séries[7].

1.8.10.4 - Eluição - O gás transportador ou de arrastamento é continuamente passado através da coluna. A amostra líquida volatilizada, é rapidamente introduzida no fluxo gasoso e assim, transportada ao longo da coluna onde tem lugar o processo de separação. Cada um dos componentes da mistura distribui-se de acordo com o seu coeficiente de partilha entre a fase móvel (gás) e a estacionária (sólido ou líquido), emergindo da coluna em tempos diversos [16].

1.8.10.5 - Programação do caudal - O problema antes descrito, solucionado com a programação da temperatura, pode também solucionar-se com o aumento do caudal do portador de 0 (zero) a um valor excepcionalmente alto, durante as análises. O caudal do portador pode terminar com 250 ml/min., em vez do normal de 50 ml/min. Esta técnica, permite aumentar a quantidade normal da amostra sem perda do rendimento da coluna [7].

CAP. II - Parte Experimental

2.1 - As Amostras

Em Marracuene (Projecto FO-2 do INIA), colheram-se as folhas (rebentos) de *E. Grandis*, *E. Paniculata*, *E. Saligna* e de *E. Tereticórnis*. Na mata de Namaacha foram colhidas as do *E. Citriodora*, *E. Saligna* e, finalmente, na Quinta da Flor Real nas Mahotas foi colhido o *E. Cinerea*.

Outros dados sobre as amostras estão patentes na tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização das plantas em estudo

Nome Científico	<i>Saligna</i>	<i>Saligna</i>	<i>Citriodora</i>	<i>Cinerea</i>	<i>Grandis</i>	<i>Paniculata</i>	<i>Tereticórnis</i>
Família	Mirtácea	Mirtácea	Mirtácea	Mirtácea	Mirtácea	Mirtácea	Mirtácea
Local / colheita	Marra ^{nc}	Nama ^{cha}	Nama ^{cha}	Mahotas	Marra ^{nc}	Marra ^{nc}	Marra ^{nc}
Parte estudada	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas
Uso	Postes	Postes	Postes	Postes	Postes	Postes	Postes
Cultura	Cultivada	Cultivada	Cultivada	Cultivada	Cultivada	Cultivada	Cultivada
Idade		20	20				
Último corte		1997	1997	-			

A primeira colheita foi feita em Julho de 1997 e a segunda foi feita em Outubro de 1997 (só para Namaacha neste último caso). As folhas (rebentos) de *E. Cinerea* foram colhidas em Abril de 1998.

Considerando que era necessário fazer a extracção dos óleos em tempo relativamente curto, sem esperar pela secagem das folhas do *E. Cinerea*, o teor de humidade calculado foi de 54.26%.

Este factor foi considerado nos cálculos realizados ao estudar o *E. Cinerea*.

Das folhas dos restantes eucaliptos, secas e pesadas, fez-se a extracção dos óleos essenciais por hidrodestilação usando o sistema de Clevenger durante uma hora com temperatura da água de refrigeração a 10°C.

Foram usados dois tipos de aparelhos conforme o descrito na Introdução; página xi .

Também foram analisados os óleos obtidos em 1996 do *E. Camaldulensis* [19], com o intuito de aferir os resultados então alcançados, comparados com os actuais, usando um cromatógrafo de maior sensibilidade.

2.2 - Os padrões

Esteve à disposição a seguinte lista de padrões: Carvacrol, 1,8-cineol, α -pineno, α -felandreno, Linalol, γ -terpineno, Cariofileno, Canfeno, δ -3-careno, δ -cadineno, β -pineno, Citronelal, β -citronelol, Geraniol, Limoneno, α -terpineol, p-cimeno e Mirceno.

2.3 Análises Realizadas

2.3.1 - Índice de Refracção

Foi determinado a uma temperatura de 22°C, usando o refractómetro Fisher Scientific, série 5645.

2.3.2 - Densidade

Foi usado um picnómetro de 1 ml de capacidade (a 15°C).

2.4 - Cromatografia em Camada Fina - CCF

2.4.1 - Material Usado

- a - placas Comerciais de alumínio 20 x 20 em sílica-gel
- b - tinas para o desenvolvimento das placas
- c - tubos capilares
- d - microtubos de ensaio
- e - tesoura
- f - frasco de spray
- g - compressor de ar

2.4.2 - Preparação das amostras - Nas análises em CCF os óleos essenciais foram diluídos na proporção de 1:10 em tolueno nos microtubos de ensaio.

2.4.3 - Eluente - mistura de tolueno e acetato de etilo (93:07)

2.4.4 - Detecção - mistura etanol, ácido sulfúrico e vainilina [28]

2.4.5 - Documentação - fotografias e fotocópias dos cromatogramas.

2.4.6 - Desenvolvimento das amostras

Em cada placa foi traçada a lápis uma recta a 1 cm da extremidade inferior da placa. Esta linha indica o início da eluição, é a linha de aplicação das amostras e padrões; a outra recta superior que é traçada, indica o fim da eluição.

A aplicação das amostras é feita com capilares (na ordem de 1μ) em pontos espaçados 1 cm. Mergulha-se a placa no eluente cujo nível não atinge 1cm. Deixa-se desenvolver até o nível pré-determinado. A placa é retirada e seca à temperatura ambiente. Para a visualização, colocaram-se as placas num excitador saturado de vapores de iodo e depois espalhou-se o reagente de visualização nas placas, para de seguida serem colocadas na estufa a 100°C durante 5 min.

2.5 - Cromatografia em Fase Gasosa - CFG

2.5.1 - O Aparelho

Foi usado um aparelho da marca Varian 3400, ligado ao Integrador 4270 da mesma marca, ambos do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da Faculdade de Ciências, UEM.

O detector é FID, e foi usado um compressor de ar da marca *Vincit*, modelo LM 7107 PR, de fabrico italiano.

Foi necessário o uso de duas colunas porque a identificação de compostos por CFG baseia-se no facto de que, sob idênticas condições de trabalho nomeadamente, temperatura, colunas e fluxo, os valores de retenção de uma dada substância se mantêm fixos. A comparação directa dos valores de retenção de um dado componente de uma mistura com os correspondentes a uma substância-padrão obtidos em idênticas circunstâncias é o primeiro passo para a sua identificação. É preciso notar que valores de retenção idênticos não correspondem necessariamente a idênticas substâncias, uma vez que existe uma possibilidade real de substâncias diferentes apresentarem comportamento cromatográfico idêntico para um dado sistema, sobretudo quando a origem e composição da amostra são desconhecidas. Informação mais positiva é obtida pela repetição da análise, quer do desconhecido quer do padrão, em outra coluna de polaridade diferente da primeira, uma vez que é bem mais raro o fenómeno de duas substâncias diferentes se comportarem idênticamente em fases estacionárias diferentes.

2.5.2 - Condições de funcionamento

Gás transportador - He - Fluxo 30ml/min

Gás de "make up" - N₂ - Fluxo 30ml/min

Combustível - H₂ - Fluxo 30ml/min

Comburente - ar - pressão Pa

Para a primeira série de injeções:

Programa de temperatura: 40°C (4min), 4°C/min;

100°C (0.1 min), 4°C/min;

200°C (10 min).

Detector FID, Temperatura = 250°C.

Coluna capilar, polar DB-Wax

Para a segunda série de injeções:

Programa de temperatura: 40°C (1 min), 5°C/min;

100°C (0.00 min), 6°C/min;

200°C (10 min).

Detector FID, Temperatura = 250°C.

Coluna capilar, polar DB-Wax

Para a confirmação dos resultados, outras análises foram feitas no Laboratório do Departamento de Química Orgânica do Royal Institute of Technology em Estocolmo, Suécia. Foi usado um aparelho coluna polar

CAP. III - Resultados Experimentais

3.1 - Resultados do rend. da extracção com o Clevenger Normal

3.1.1 - Rendimento 1ª colheita (Namaacha e Mahotas)

Tabela 3 - Rend. das extracções das colheitas de Namaacha e das Mahotas

	Saligna Nam ^{cha}	Citriodora Nam ^{cha}	Cinerea Mahotas
nº ensaio	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)
1	1.50	3.10	7.32
2	1.48	3.40	7.32
3	1.50	3.09	7.33
4	1.46	3.00	6.94
5	1.47	3.20	7.33
6	1.45	2.98	7.33
7	1.50	3.01	7.34
8	1.48	3.10	7.33
m	1.48	3.11	7.28
$\sum(x-m)^2$	0.0026	0.1326	0.1324

3.1.2 - Rendimento da 1ª colheita (Marracuene)

Tabela 4 - Rend. das extracções das colheitas de Marracuene

	Saligna	Paniculata	Grandis	Tereticórnis
nº ensaio	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)
1	0.73	0.20	0.77	3.35
2	0.68	0.22	0.75	3.40
3	0.67	0.20	0.70	3.27
4	0.77	0.20	0.78	3.30
5	0.76	0.19	0.74	3.36
6	0.73	0.18	0.77	3.31
7	0.73	0.21	0.69	3.40
8	0.73	0.21	0.68	3.35
m	0.73	0.20	0.74	3.34
$\sum(x - m)^2$	0.0086	0.0011	0.0112	0.0132

3.1.3 - Rendimento de 2ª colheita de Namaacha

Tabela 5 - Rend. das extracções das colheitas de Namaacha

	Saligna	Citriodora
nº ensaio	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)
1	2.09	3.94
2	1.90	4.14
3	2.04	4.23
4	2.10	4.23
5	2.10	3.87
6	2.10	4.18
7	2.15	4.16
8	2.04	4.18
m	2.07	4.12
$\sum(x - m)^2$	0.0402	0.1283

3.2 - Resultados da extracção com o Clevenger Modificado(1ª colheita)

Tabela 6 - Rend. das extracções com o C. Modificado

	Tereticórnis	Citriodora
nº ensaio	rend. X(%v/p)	rend. X(%v/p)
1	3.50	3.40
2	3.43	3.42
3	3.37	3.39
4	3.43	3.40
5	3.42	3.40
6	3.42	3.41
7	3.43	3.39
8	3.44	3.40
m	3.43	3.40
$\sum(x - m)^2$	0.0087	0.0007

3.2.1 - Tratamento estatístico das médias dos rendimentos

Condições: $n = 8$
 $n - 1 = 7$
 $t_{(P=0.05)} = 2.365$

Tabela 7 - Cálculo dos limites de confiança das médias dos rendimentos

Amostra	m	s	$m \pm ts/n^{1/2}$	Interv. Confiança
Salig. Namcha 1ª Extr	1.48	0.0193	1.48 ± 0.02	1.46 - 1.50
Citriodora	3.11	0.1372	3.11 ± 0.11	3.00 - 3.22
Saligna de Marne	0.73	0.0346	0.73 ± 0.03	0.70 - 0.76
Paniculata	0.20	0.0125	0.20 ± 0.01	0.19 - 0.21
Grandis	0.74	0.0396	0.74 ± 0.03	0.71 - 0.77
Tereticórnis	3.34	0.0465	3.34 ± 0.04	3.30 - 3.38
Cinerea	7.28	0.1375	7.28 ± 0.11	7.17 - 7.39
Salig. Namcha 2ª Extr	2.07	0.0756	2.07 ± 0.06	2.01 - 2.13
E. Citr. 2ª Extr	4.12	0.1353	4.12 ± 0.11	4.01 - 4.23
E. Teret. C.Mod	3.43	0.0356	3.43 ± 0.03	3.40 - 3.46
E. Citr. 2ª Extr C.Mod	3.40	0.0099	3.40 ± 0.01	3.39 - 3.41

3.3 - Testes de Significância (TS) (Análise de Variância)

Comparação - A - Entre 1ª e 2ª colheita de citriodora

Comparação - B - Entre 1ª e 2ª colheita de Saligna de Namaacha

Comparação - C - Entre Saligna de Namaacha e de Marracuene

Condições: Graus de liberdade = 14 n = 8
 P = 0.05 n - 1 = 7
 $t_{crit} = 2.145$

Tabela 8 - testes de significância de óleos obtidos com o C. Normal

Amostra	Comparação - A		Comparação -B		Comparação -C	
	1ª colheita	2ª colheita	1ª colheita	2ª colheita	Salg. Marr.	Salg. Nama.
$m_{1,2}$	3.11	4.12	1.48	2.07	0.73	2.07
$s_{1,2}$	0.1372	0.1353	0.0193	0.0756	0.0346	0.0756
$s^2_{1,2}$	0.0188	0.0183	0.0004	0.0057	0.0012	0.0057
	$S^2 = 0.1363$ $S = 0.3691$ $t_{obs} = - 5.47$		$S^2 = 0.0031$ $S = 0.0552$ $t_{obs} = - 21.38$		$S^2 = 0.0035$ $S = 0.0587$ $t_{obs} = - 45.66$	

Como se pode observar, em todos os casos, $|t_{ob}| > |t_{crit}|$. Assim pode-se concluir que:

Comparação -A - As médias dos rendimentos da extracção do óleo essencial têm diferença significativa. Portanto, o rendimento da 2ª extracção é maior que o da 1ª extracção. A altura da colheita influencia significativamente no rendimento.

Comparação -B - As médias dos rendimentos da extracção do óleo essencial têm diferença significativa. Portanto, o rendimento da 2ª extracção é maior que o da 1ª extracção. A altura da colheita influencia significativamente no rendimento.

Comparação -C - As médias dos rendimentos da extracção do óleo essencial têm diferença significativa. Portanto, os rendimentos dos dois locais são significativamente diferentes. O rendimento pode depender do local da colheita.

Comparação - D - Tereticórnis com o C. Normal e C. Mod.

Comparação - E - Citriodora com o C. Normal e C. Mod.

Condições: Graus de liberdade = 14 n = 8
 P = 0.05 n - 1 = 7
 $t_{crit} = 2.145$



Tabela 9 - testes de significância de óleos obtidos com o C. Mod.

Amostra	Comparação - D		Comparação - E	
	C. Normal	C. Mod.	C. Normal	C. Mod.
$m_{1,2}$	3.34	3.43	3.11	3.40
$s_{1,2}$	0.0456	0.0356	0.1326	0.0007
$s^2_{1,2}$	0.0022	0.0013	0.0176	0.0000
	$S^2 = 0.0018$ $S = 0.0418$ $t_{ob} = -4.31$		$S^2 = 0.0667$ $S = 0.0044$ $t_{ob} = -131.82$	

Como se pode observar, em todos os casos, $|t_{ob}| > |t_{crit}|$. Assim pode-se concluir que:

Comparação - D e E - As médias dos rendimentos da extração do óleo essencial têm diferença significativa. O uso do Clevenger Melhorado melhora significativamente o rendimento do óleo.

3.4 - Resultados da Medição dos Índices de Refracção

Salig. Nacha	Salig. Mar ^{ne}	Citr.	Citr. Mod	Teret.	Teret. Mod	Cinerea	Grand.	Panic
1.4717	1.4661	1.4525	1.4506	1.4633	1.4455	1.4608	1.4645	1.4710

3.5 - Resultados da Medição da Densidade

Foi usado um picnómetro de 1 ml de capacidade (15°C) e, de acordo com o procedimento, foram achados os seguintes valores:

Salig. Nacha	Salig. Mar ^{nc}	Citr.	Teret.	Cinerea	Grand.	Panic
0.8876	0.8508	0.8020	0.9096	0.9132	0.9096	0.9208

3.6 - Cromatografia em Camada Fina

Os cromatogramas resultantes das análises por CCF estão nos Anexos

3.7 - Cromatografia em Fase Gasosa

3.7.1 - Ordem de eluição dos padrões

1 - α -pineno	4 - β -pineno	7 - 1,8-cineol	10 - Citronelal	13 - β -citronelol
2 -	5 - Mirceno	8 - γ -terpineno	11 - Linalol	14 - Geraniol
3 - Canfeno	6 - Limoneno	9 - p-cimeno	12 - δ -cadineno	15 - Carvacrol

3.7.2 - Percentagem dos componentes maioritários do E. Camaldulensis

Tabela 10 - Percentagem dos componentes maioritários do E. Camaldulensis

Ensaio	T 12 C			T 12 V		
	Limoneno	1,8-cineol	p-cimeno	Limoneno	1,8-cineol	p-cimeno
1	6.60	71.31	5.08	15.37	50.80	9.87
2	6.57	70.40	4.95	14.92	50.83	9.59
3	6.74	70.59	5.14	15.46	50.70	9.84
4	6.66	70.99	5.07	15.40	49.98	9.60
5	6.70	71.35	5.11	15.39	50.58	9.66
m	6.65	70.93	5.07	15.31	50.58	9.71
s	0.669	0.4245	0.0725	0.2195	0.3483	0.1337
Ensaio	T 12 R			T 4		
	Limoneno	1,8-cineol	p-cimeno	α -pineno	β -pineno	1,8-cineol
1	6.34	71.46	5.17	7.38	11.80	50.55
2	6.33	70.91	5.04	7.28	11.63	50.50
3	6.43	71.21	5.18	7.26	12.03	51.21
4	6.38	71.38	5.17	7.29	11.90	50.55
5	6.42	71.29	5.14	7.35	11.93	50.53
m	6.38	71.25	5.14	7.31	11.86	50.67
s	0.0453	0.2120	0.0579	0.0507	0.1516	0.3037

3.7.2.1 - Limites de confiança

Condições: $n = 5$
 $n - 1 = 4$
 $t_{(P=0.05)} = 2.776$

Tabela 11 - Limites de Confiança da percentagem dos componentes maioritários do *E. Camaldulensis*

(A) -T 12 C				
Composto	m	s	$m \pm ts/n^{1/2}$	Interv. Confiança
Limoneno	6.65	0.0699	6.65 ± 0.09	6.56 - 6.74
1,8-cineol	70.93	0.4245	70.93 ± 0.53	70.04 - 71.46
p-cimeno	5.07	0.0725	5.07 ± 0.09	4.98 - 5.16
(B) -T 12 V				
1,8-Cineol	50.58	0.3483	50.58 ± 0.43	50.15 - 53.01
γ -terpineno	9.71	0.1337	9.71 ± 0.17	9.54 - 9.88
p-cimeno	15.31	0.2195	15.31 ± 0.27	15.04 - 15.58
(C) -T 12 R				
Limoneno	6.38	0.0453	6.38 ± 0.06	6.32 - 6.44
1,8-cineol	71.25	0.2120	71.25 ± 0.26	70.99 - 71.51
p-cimeno	5.14	0.0579	5.14 ± 0.07	5.07 - 5.21
(D) -T 4				
α -pineno	7.31	0.0507	7.31 ± 0.06	7.25 - 7.37
β -pineno	11.86	0.1516	11.86 ± 0.19	11.67-12.05
1,8-cineol	50.67	0.3037	50.67 ± 0.38	50.29 - 51.05

3.7.2.2 - Outros componentes do *E. Camaldulensis*Tabela 12 - Outros componentes dos óleos de *E. Camaldulensis*

Componente	A	B	C	D
α -pineno	3.22	1.23	3.21	
Canfeno				0.18
β -pineno	2.45	0.17	2.40	
Mirceno	0.13	0.20	0.13	0.53
Limoneno		4.02		5.30
γ -terpineno	2.07		1.91	4.32
p-cimeno				5.30
δ -cadineno		0.15	0.11	
β -citronelol				
Geraniol	0.18	0.35	0.20	

3.7.3 - Percentagem dos componentes maioritários - C. Mod.

Tabela 13 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos C. Mod.

	E. Citriodora 1 ^a Colheita						
	1	2	3	4	5	m	s
p-cimeno	1.08	1.12	1.80	1.11	1.11	1.24	0.3112
Citronelal	81.20	80.98	81.37	81.71	81.92	81.44	0.3799
β -citronelol	3.98	4.12	4.10	4.11	4.13	4.09	0.0614
	E. Tereticórnis						
α -pineno	5.65	5.69	5.77	5.71	5.69	5.70	0.0439
Limoneno	6.84	6.94	7.18	7.46	7.14	7.11	0.2398
1,8-cineol	74.85	75.02	74.84	74.49	74.74	74.79	0.1946

Autor

MUSSANE, Venildo Ernesto

Trabalho de licenciatura

Cota

DATA	RÚBRICA	N.º CARTÃO
9/10/00	Havaieie	
24/10/00	Havaieie	
25/10/00	Havaieie	
7/12/02	D D D	
29/3/01	Havaieie	
18/4/01	Havaieie	
14/5/01	Havaieie	
21/5/01	Havaieie	
31/5/01	Havaieie	
26/06/1	Ep' dia Clulank	
14/11/01	Stia	
19/12/01	Amçois	
04/14/02	SAOS	
29/14/03	Luba	77/96
8/11/03	Natalia	
11/11/03	Amélia Z. Fumale	
02/14/03	Amélia Z. Fumale	
12/07/05	Oscelete	
03/01/05	Sancho Albino Boate	
29/10/06	Irete menizer	
05/09/06	Perique	
06/09/06	Perique	
08/09/06	Perique	
14/09/06	Sancho da Boate	
20/09/06	Cumbane; Alexandre	

DATA	RÚBRICA	N.º CARTÃO
02/10/06	Saque	
03/10/06	Chimene	
06/10/06	Chimene	
10/10/06	Saque	
11/10/06	Saque	
12/10/06	Saque	
23/10/06	Saque	
12/04/07	Saque	
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		
/ /		

3.7.4 - Percentagem dos componentes maioritários - C. Normal

Tabela 14 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos - C. Normal.

	E. Salig. Na ^{cha} 1 ^a Colheita						
	1	2	3	4	5	m	s
α -pineno	21.40	21.43	21.34	21.39	21.38	21.39	0.0328
1,8-cineol	27.26	27.22	27.17	27.20	27.28	27.23	0.0447
p-cimeno	19.33	19.29	19.26	19.30	19.28	19.29	0.0260
E. Citrodora 1 ^a Colheita							
1,8-cineol	1.45	1.41	1.50	1.39	1.45	1.44	0.0424
Citronelal	79.62	79.90	78.85	79.60	79.80	79.55	0.4130
β -citronelol	5.48	5.51	4.98	5.61	5.59	5.43	0.2595
E. Saligna Mar ^{ne} 1 ^a Colheita							
α -pineno	94.17	93.87	94.05	94.11	93.98	94.04	0.1165
p-cimeno	2.26	2.20	2.19	2.25	2.24	2.23	0.0311
	0.99	0.97	0.99	0.96	0.99	0.98	0.0141
E. Paniculata							
α -pineno	25.12	24.84	24.36	25.05	24.50	24.77	0.3342
Limoneno	2.34	2.22	2.35	2.36	2.34	2.32	0.0577
1,8-cineol	46.95	46.40	47.26	46.90	46.97	46.90	0.3110
E. Grandis							
α -pineno	36.93	36.76	35.99	36.90	36.87	36.69	0.3965
Limoneno	4.00	3.14	3.12	3.98	3.93	3.63	0.6330
1,8-cineol	28.11	27.37	27.40	28.08	28.14	27.82	0.3978

Tabela 15 - Percentagem dos componentes maioritários dos Eucaliptos (cont).

	E. Tereticórnis						
	1	2	3	4	5	m	s
α -pineno	3.47	2.94	3.45	3.30	3.42	3.32	0.2203
Limoneno	6.94	7.03	6.84	6.60	6.87	6.86	0.1608
1,8-cineol	72.90	73.01	72.85	72.77	72.92	72.89	0.0886
	E. Cinerea						
	E. Salig. Nama ^{cha} 2 ^a Colheita						
α -pineno	35.52	35.70	36.52	36.26	37.55	36.31	0.8032
1,8-cineol	14.90	14.26	14.67	15.85	14.91	14.92	0.5838
p-cimeno	15.92	14.96	15.13	15.85	15.47	15.47	0.4250
	E. Citroedora 2 ^a Colheita						
β -pineno	1.56	1.53	1.39	1.43	1.27	1.44	0.1162
Citronelal	82.53	82.26	81.50	81.59	81.59	81.89	0.4687
β -citronelol	5.24	5.58	5.17	5.48	5.32	5.36	0.1695

3.7.4.1 - Limites de confiança

Condições: $n = 5$
 $t_{(p=0.05)} = 2.776$

Tabela 16 - Limites de Confiança da percentagem dos componentes maioritários.

(E) Saligna Namcha 1ª Colheita C. Normal				
Composto	m	s	$m \pm ts/n^{1/2}$	Interv. Confiança
α -pineno	21.39	0.0328	21.39 ± 0.04	21.35 - 21.43
1,8-cineol	27.23	0.0447	27.23 ± 0.06	27.17 - 27.29
p-cimeno	19.29	0.0260	19.29 ± 0.03	19.26 - 19.32
(F) Citriodora 1ª Colheita C. Normal				
1,8-cineol	1.44	0.0424	1.44 ± 0.05	1.39 - 1.49
Citronelal	79.55	0.4130	79.55 ± 0.51	79.04 - 80.06
β -citronelol	5.43	0.2595	5.43 ± 0.32	5.11 - 5.75
(G) Saligna Marne 1ª Colheita C. Normal				
y	94.04	0.1165	94.04 ± 0.14	93.90 - 94.18
α -pineno	2.23	0.0311	2.23 ± 0.04	2.19 - 2.27
p-cimeno	0.98	0.0141	0.98 ± 0.02	0.96 - 1.00
(H) Paniculata C. Normal				
α -pineno	24.77	0.3342	24.77 ± 0.41	24.36 - 25.18
Limoneno	2.32	0.0577	2.32 ± 0.07	2.25 - 2.39
1,8-cineol	46.90	0.3110	46.90 ± 0.39	46.51 - 47.29

Tabela 17 - Limites de Confiança da percentagem dos componentes maioritários (cont.)

(I) E. Grandis C. Normal				
α -pineno	36.69	0.3965	36.69 ± 0.49	36.20 - 37.18
Limoneno	3.63	0.4608	3.63 ± 0.57	3.06 - 4.20
1,8-cineol	27.82	0.3978	27.82 ± 0.49	27.33 - 28.31
(J) Tereticórnis C. Normal				
α -pineno	3.32	0.2203	3.32 ± 0.27	3.05 - 3.59
Limoneno	6.86	0.1608	6.86 ± 0.20	6.66 - 7.06
1,8-cineol	72.89	0.0886	72.89 ± 0.11	72.78 - 73.00
(K) Cinerea C. Normal				
1,8-cineol				
Mirceno				
α -pineno				
(L) Saligna Namcha 2ª Colheita C. Normal				
α -pineno	36.31	0.8032	36.31 ± 0.99	35.32 - 37.30
1,8-cineol	14.92	0.5838	14.92 ± 0.72	14.20 - 15.64
p-cimeno	15.47	0.4250	15.47 ± 0.53	14.94 - 16.00
(M) Citriodora 2ª Colheita C. Normal				
β -pineno	1.44	0.1162	1.44 ± 0.14	1.30 - 1.58
Citronelal	81.89	0.4687	81.89 ± 0.58	81.31 - 82.47
β -citronelol	5.36	0.1695	5.36 ± 0.21	5.15 - 5.57

Tabela 18 - Limites de Confiança da percentagem dos componentes maioritários (cont.).

	(N) Citriodora 1ª Colheita C. Mod.			
p-cimeno	1.24	0.3112	1.24 ± 0.39	0.85 - 1.63
Citronelal	81.44	0.3799	81.44 ± 0.47	80.97 - 81.91
β-citronelol	4.09	0.0614	4.09 ± 0.17	3.92 - 4.26
	(O) Tereticórnis C. Mod			
α-pineno	5.70	0.0439	5.70 ± 0.05	5.65 - 5.75
Limoneno	7.11	0.2398	7.11 ± 0.30	6.81 - 7.41
1,8-cineol	74.79	0.1946	74.79 ± 0.24	74.55 - 75.03

3.7.4.2 - Outros componentes dos óleos de Eucaliptos tratados

Tabela 19 - Percentagem de outros componentes dos óleos de Eucaliptos estudados

Comp ^{nte}	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
α-pineno		0.21							0.26	0.27	
Canfeno		0.49		0.14	0.79	0.14		1.48			
β-pineno		1.01		0.38	0.38	0.74		0.21		1.11	0.72
Mirceno	0.35	0.12		0.15		0.13			1.00		0.16
Limoneno	2.85	0.66	0.27				4.53	4.15	0.64	0.98	
1,8-cineol			0.89						0.53	0.60	
γ-terpineno	17.0			0.27	0.52		1.08	0.88	0.18		
p-cimeno		0.55		0.18	0.17	2.24	2.14		0.65		2.28
Citronelal				0.26	0.44			0.55			
Linalol	0.26	0.30							0.27		
δ-cadineno				0.14							
β-citronelol								0.17			
Geraniol	0.18			0.14	0.18	0.33		0.34			0.36
Carvacrol								0.15			

3.8 - Testes de Significância (TS) (Análise de Variância)

Comparação - F - Percentagem. do Citronelal, 1ª e 2ª extrac - Citr. C. Normal

Comparação - G - Percentagem do Citronelal 1ª extrac-Citr. C. Normal e C.Mod.

Comparação - H - Percentagem do 1,8 - cineol - Tereticórnis C. Normal e C. Mod.

Condições: Graus de liberdade = 8 n = 5
 P = 0.05 n - 1 = 4
 $t_{crit} = 2.571$

tabela 20 - TS dos teores dos principais componentes de Eucaliptos.

Amostra	Comparação - F		Comparação - G		Comparação - H	
	1ª colheita	2ª colheita	C.Normal	C. Mod	C.Normal	C. Mod
$m_{1,2}$	79.55	81.89	79.55	81.44	72.89	74.79
$s_{1,2}$	0.4130	0.4687	0.4130	0.3799	0.0886	0.1946
$s^2_{1,2}$	0.1706	0.2197	0.1706	0.1443	0.0078	0.0379
	$S^2 = 0.1952$ $S = 0.4418$ $t_{obs} = 8.375$		$S^2 = 0.1575$ $S = 0.3968$ $t_{obs} = 7.531$		$S^2 = 0.0229$ $S = 0.1513$ $t_{obs} = 19.866$	

Como se pode observar, em todos os casos, $|t_{ob}| > |t_{crit}|$. Assim pode-se concluir que:

Comparação - F - As médias dos rendimentos dos principais componentes têm diferença significativa. O rendimento do Citronelal é maior na 2ª colheita, o que significa que, o teor de Citronelal aumenta ao longo do intervalo de Julho a Novembro.

Comparações - G e H - As médias dos rendimentos dos principais componentes dos óleos analisados têm diferença significativa. Para ambos os casos o uso do Clevenger Modificado mostra-se bastante rentável pois os teores de Citronelal e de 1,8 - cineol são maiores que os obtidos partindo do Clevenger Normal.

Comparação da Percentagem-Saligna de Namaacha 1^a e 2^a extracção - C. Normal

Condições: Graus de liberdade = 8 n = 5
 P = 0.05 n - 1 = 4
 t_{crit} = 2.571

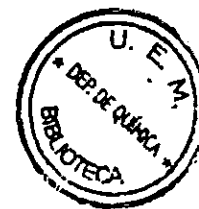


tabela 21 - TS dos teores dos principais componentes do Saligna de Namaacha 1^a e 2^a extracção.

Amostra	A α -pineno		B 1,8-cineol		C p-cimeno	
	1 ^a extrac	2 ^a extrac	1 ^a extrac	2 ^a extrac	1 ^a extrac	2 ^a extrac
m _{1,2}	31.39	36.31	27.23	14.92	19.29	15.47
s _{1,2}	0.0328	0.8032	0.0447	0.5838	0.0260	0.4250
s ² _{1,2}	0.0011	0.6451	0.0020	0.3408	0.0007	0.1806

A α -pineno

$$S^2 = 0.3231$$

$$S = 0.5684$$

$$t_{obs} = 41.50$$

B 1,8-cineol

$$S^2 = 0.1714$$

$$S = 0.4140$$

$$t_{obs} = 47.01$$

C p-cimeno

$$S^2 = 0.0907$$

$$S = 0.3011$$

$$t_{obs} = 20.06$$

Como se pode observar, em todos os casos $|t_{ob}| > |t_{crit}|$. O que significa que, há diferença significativa dos teores. Assim, pode-se observar que, o teor de α -pineno aumenta enquanto que os teores de 1,8-cineol e de p-cimeno decrescem no intervalo entre as duas colheitas.

CAP. IV - Avaliação dos Resultados

4.1 - Rendimento dos óleos - extracção com o C. Normal

De um modo geral, o rendimento obtido pode ser considerado normal uma vez que se enquadra perfeitamente nos padrões internacionalmente aceites.

Na extensa literatura consultada sobre os óleos essenciais, sua extracção e rendimento, prova-se que, de facto, os rendimentos rondam os valores obtidos. De realçar todavia, o facto de o factor solo, clima e outros, afectarem grandemente o rendimento do óleo e, sobretudo, os componentes existentes no óleo.

Este comportamento pode ser testemunhado no rendimento (1.48%p/p, tabela 3 página 33 e 0.73%p/p, tabela 4 página 34) e nos componentes existentes no E. Saligna de Namaacha e E. Saligna de Marracuene.

Por outro lado, tratando-se de uma mesma planta, podia-se esperar que os componentes principais fossem os mesmos contudo, o resultado, indica o contrário. Pode-se ver na tabela 3 da página 33 que o rendimento do E. Saligna de Namaacha é 1.48%p/p no rendimento do óleo, e 27.23% do componente maioritário (tabela 14 da página 43), enquanto que a tabela 4 da página 34 mostra que o rendimento do E. Saligna de Marracuene é 0.73%p/p de óleo e 94.04% do componente maioritário (tabela 14 da página 43).

As cifras dos rendimentos dos óleos de Marracuene, são baixos em comparação com os de Namaacha. É provável que os factores clima e solo tenham grande influência neste aspecto.

4.1.1 - Cinerea

Um aspecto que importa realçar, é o rendimento extraordinário do óleo de E. Cinerea (7.28%p/p, tabela 3 página 33) que é de longe, o maior relativamente a todos os tipos de Eucaliptos estudados.

4.1.2 - Rendimento dos óleos em relação à época de colheita

Para este estudo foram escolhidos o *E. Citriodora* e *E. Saligna*, ambos de Namaacha. As folhas foram colhidas em Julho e Novembro do mesmo ano, nos mesmos talhões em Namaacha.

Em relação aos teores dos óleos, o *Citriodora* rendeu 3.11% p/p na primeira colheita e 4.12% p/p na segunda colheita (tabelas 3 e 5 nas páginas 33 e 35, respectivamente).

Feito o teste de significância (análise de variância), tabela 8 página 38, observa-se que existe uma diferença significativa nestes rendimentos.

Com o *Saligna* obtém-se os seguintes rendimentos: 1.48% p/p na primeira colheita (tabela 3 página 33) e 2.07% p/p na segunda colheita (tabela 5 página 35). O teste de significância, tabela 8 página 38, sugere que existe, de facto, uma diferença significativa nestes rendimentos.

Estes resultados são relevantes e testemunham a tese segundo a qual, além de outros factores, o rendimento dos óleos depende da época da colheita das amostras.

4.2 - Percentagem dos principais componentes

4.2.1 - Percentagem dos principais componentes em relação à época de colheita

O estudo feito usando o *E. Citriodora*, mostra que os teores de Citronelal (79.55% na primeira colheita e 81.89% na segunda colheita), tabelas 14 e 15 das páginas 43 e 44, respectivamente, é significativamente diferente. Este facto pode ser visto na análise de variância da tabela 20 na página 48.

Por outro lado, o *E. Saligna* também foi estudado, tendo mostrado que os teores dos principais componentes, variam bastante no período que vai de Julho a Novembro.

Isto pode ser visto na tabela 14 da página 43 que apresenta para a primeira colheita o seguinte: 1,8 - cineol 27.23%, α -pineno 21.39% e, para o p-cimeno 19.29%. Na segunda colheita, os valores obtidos dos componentes maioritários são: 1,8 - cineol 14.92%, α -pineno 36.31% e p-cimeno 15.47%, tabela 15 página 44.

Assim sendo, as diferenças observadas são: 12.31% para o 1,8-cineol, 14.92% para o α -pineno e 3.82% para o p-cimeno.

Os resultados foram tratados estatisticamente (análise de variância) na tabela 21 da página 49 e, conclui-se que existe uma diferença significativa entre os teores obtidos na primeira colheita, em relação aos obtidos na segunda colheita.

Estes resultados leva-nos à confirmação dos resultados anteriores (ponto 4.1.2) que, já nos habilitava a dizer que existe uma dependência dos rendimentos dos óleos relativamente à época da colheita das folhas para a extracção dos óleos essenciais.

4.3 - Rendimento dos óleos - extracção com o C. Modificado

Os rendimentos dos óleos obtidos tanto pelo Clevenger Normal (3.11%p/p na primeira colheita e 4.12%p/p na segunda colheita, tabelas 3 e 5 das páginas 33 e 35 respectivamente) como pelo Clevenger Melhorado (3.40%p/p tabela 6, página 36) situam-se dentro dos padrões internacionalmente aceites.

Assim sendo, e de acordo com estes teores de óleos essenciais obtidos, as condições de trabalho que o Departamento de Química da Faculdade de Ciências da UEM oferece, nomeadamente o sistema de frio e o aparelho de extracção (Clevenger), adequam-se para este tipo de extracção.

O uso do Clevenger Melhorado (uma inovação do Departamento de Química da UEM), revela-se bastante útil pois melhora substancialmente a produção do óleo de 79.55% de Citronelal com o Clevenger Normal (tabela 14 da página 43), para 81.44% de Citronelal obtido pelo Clevenger Melhorado (tabela 13 da página 42), o que constitui uma diferença de 1.89%. De acordo com o estudo de significância, vide tabela 20 página 48, sugere que existe uma diferença significativa entre os teores de Citronelal obtidos pelos diferentes tipos de aparelhos.

Em relação à produção do óleo essencial, 3.11%p/p, tabela 3 página 33 para o Clevenger Normal e 3.40%p/p tabela 6 página 36, para o Clevenger Melhorado, constituindo uma diferença de 0.29% o que, de acordo com o estudo do teste de significância (tabela 9 página 39) sugere uma diferença significativa em termos de percentagens de óleos obtidos.

Para comprovar estes resultados, fez-se as mesmas análises usando o *E. Tereticornis* de Marracuene. Neste caso, o rendimento do óleo usando o Clevenger Normal foi de 3.34% e, com o Clevenger Melhorado obteve-se 3.43%, tabelas 4 e 6 das páginas 34 e 36. A tabela 9 da página 39 do teste de significância, revela que existe uma diferença significativa nas médias dos rendimentos.

O teor do componente maioritário, o 1,8 - cineol, 72.89% e 74.79%, tabelas 15 e 12 das páginas 44 e 42, para o Clevenger Normal e Melhorado respectivamente, também mostra-se na tabela 20 da página 48 (teste de significância) que têm, entre si, uma diferença significativa.

Estas constatações mostram claramente que, primeiro, a produção dos óleos essenciais ocorreu nas condições desejáveis (prova disso são os resultados que estão dentro dos limites aceitáveis) e, segundo, existe de facto, uma melhoria de rendimento com o uso do Clevenger Melhorado em relação ao Normal.

Portanto, de acordo com as condições financeiras existentes, seria de desejar e aconselhar a produção deste tipo de aparelho para ser usado nas extracções de óleos essenciais.

4.4 - Estudo dos constituintes de alto valor comercial

De acordo com o seu emprego nas várias indústrias nomeadamente na de perfumes e farmacêutica, o Citronelal e o 1,8-cineol têm um alto valor comercial e, nas espécies de Eucaliptos estudadas, o *E. Citriodora* e o *E. Tereticornis* são os que maiores teores de Citronelal e 1,8 - cineol produzem, com respectivamente 81.89% e 72.89%, tabela 15 página 44.

Um concorrente para o *Tereticórnis* seria o *E. Camaldulensis* de Marracuene de cujas folhas se extrai um óleo com cerca de 71.25% de 1,8 - cineol, tabela 10, página 40.

Estes valores foram obtidos com o uso do Clevenger Normal devido à avaria do Melhorado, o que não permitiu que os estudos relativos à grande parte de óleos tratados tivessem a devida continuação.

Portanto, esta comparação deveria ser feita também em termos de óleos obtidos com o Clevenger Melhorado. Todavia, os resultados seriam os mesmos em termos de componentes já que, o uso deste novo aparelho melhora apenas o rendimento tanto do óleo, como dos mesmos componentes existentes no óleo.

4.5 - Considerações sobre os componentes

Um aspecto relevante que se tratou neste trabalho, foi a determinação, não só dos componentes maioritários, assim como de outros com teores menores nos óleos de Eucalipto estudados.

Uma limitação, é o facto de não dispor de um número elevado de padrões, o que sem dúvida, permitiria alargar a identificação de mais componentes existentes nos óleos.

As tabelas 12 e 19 das páginas 42 e 47 mostram estes componentes e os seus teores nos óleos estudados.

4.6 - Sobre os óleos de *E. Camaldulensis* estudados em 1996.

Estes óleos foram extraídos e estudados em 1996 no Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane, num trabalho de fim de Curso.

Nessa altura usou-se um aparelho menos sensível, de tal ordem que a injeção era feita com uma amostra de alta concentração. Portanto, havia a necessidade de uma nova análise das amostras para se conhecer as percentagens dos componentes usando um aparelho mais sensível e de amostras de menor concentração, como é feito no presente trabalho.

De recordar que o estudo apenas se limitou em dois compostos, 1,8-cineol e Limoneno. Desta vez, tendo um vasto leque de padrões à mão, foi possível verificar a ocorrência de outros componentes que não haviam sido detectados anteriormente, como são os casos de α -pineno, β -pineno, γ -terpineno, Geraniol, Mirceno, δ -cadineno, Canfeno e p-cimeno. Os dados obtidos e as respectivas diferenças estão na tabela que se segue.

tabela 22 - Percentagens e diferenças de percentagens do *E. Camaldulensis*

Óleo	Teor Anterior		Teor Recente		Diferença Observada	
	1,8-cineol	Limoneno	1,8-cineol	Limoneno	1,8-cineol	Limoneno
T4	53.98	5.75	50.67	5.30	3.31	0.45
T12V	56.09	4.22	50.58	4.02	5.51	0.20
T12R	73.43	6.65	71.25	6.38	2.18	0.27
T12C	65.48	5.59	70.93	6.65	5.45	1.06

Perante estes factos, constata-se que as quantidades tanto de 1,8-cineol como do Limoneno variam, à menor para a análise recentemente feita.

As conclusões às quais se chegou em 1996 (22), não sofrem qualquer alteração pois, como se pode constatar, as folhas mal conservadas (T12C), embora sejam rebentos, apresentam um teor de 1,8-cineol menor (70.93%, tabela 10 página 40), que as bem conservadas (T12R) que têm um rendimento de 71.25%, tabela 10, página 40.

Em relação à idade das folhas, reconfirmam-se os resultados alcançados em 1996 (22).

As folhas velhas (T12V), apresentam um teor de 1,8-cineol menor (50.58%) que as de rebentos (T12R) que têm, como se referiu, 71.25%, tabela 10 página 40.

4.7 - O que se perde nos Eucaliptais

De um modo geral, o plantio de eucaliptais serve como fonte de postes para as linhas de energia eléctrica e de travessas dos Caminhos de Ferro em regiões remotas. Nas áreas onde existem estas plantações, não ocorrem com tanta frequência as pragas de mosquitos, pois certos tipos de eucaliptos repelem estes insectos que tantos danos causam à saúde pública provocando a famigerada malária.

Com os eucaliptais existentes no país pode-se iniciar a produção de óleos essenciais que, depois da respectiva rectificação, pode vir a ser uma grande fonte para a obtenção de vários compostos importantes

De acordo com um estudo efectuado no Brasil, a pesagem de um *E. Saligna* com quatro anos de idade, resultou no seguinte:

Componente	Peso por hectare
folhagem + tronco	38 toneladas
tapete de folhas mortas	8 toneladas
raízes	10 toneladas

Segundo o mesmo estudo, o peso total da biomassa pode chegar às 500 toneladas por ha, o que dá cerca de 71 43 toneladas de tapete de folhas mortas.

Considerando apenas as 71 toneladas da tapete de folhas mortas e levando este caso para Namaacha ou mesmo Marracuene, quais seriam os valores de óleo essencial que iríamos produzir?

Um simples cálculo matemático, leva à conclusão de que a produção seria de:

- 132.15 litros/he no caso de *Saligna* de Namaacha 1ª colheita;
- 184.83 litros/he no caso de *Saligna* de Namaacha 2ª colheita;
- 89.29 litros/he no caso de *Saligna* de Marracuene 1ª colheita;

4.8 - Os óleos mais rentáveis

Os Eucaliptos *E. Saligna* de Marracuene (), do *E. Citriodora* de Namaacha (Citronelal), *E. Cinerea* () e *E. Tereticórnis* (1,8-cineol), constituem o grupo cujos óleos atingem os níveis internacionalmente aceites (entre 50 - 60%), e, por isso mesmo, podem ser explorados.

Os óleos dos restantes Eucaliptos, *E. Saligna* de Namaacha, *E. Grandis*, e *E. Paniculata*, têm valor académico pois os teores dos componentes maioritários não são superiores a 60%.

4.9 - Resultados da medição do índice de refração e densidade

Para a medição da Densidade foram usados os óleos obtidos a partir do Clevenger Normal.

4.10 - Cromatografia em Camada Fina - CCF

Embora não seja um método da envergadura da CFG, a CCF é, na ausência de condições mais sofisticadas, de considerar. Neste trabalho, foi possível a comprovação dos componentes maioritários antes identificados por CFG.

Portanto, estando em poder dos padrões, é possível identificar (ou confirmar, como foi neste caso), com uma grande aproximação os componentes existentes nos óleos

CAP. V - Conclusões e Recomendações

Após este trabalho, conclui-se mediante os resultados alcançados que:

- O uso da Cromatografia em Fase Gasosa é útil como instrumento de identificação dos componentes dos óleos essenciais (usando padrões) pelo que, é de recomendar que se envide esforços no sentido de se adquirir mais aparelhos pois o único existente pode avariar por um lado e, por outro, numa fase em que a UEM está em franca expansão, aliado ao facto de outras Instituições estarem interessadas em usar o mesmo aparelho, o volume de trabalho poderá vir a ser enorme, de tal modo que, a oferta será menor em relação à procura.

Esta procura é uma prova irrefutável de que o uso da CFG nos tempos que correm, ganha outra dinâmica nas várias vertentes da nossa vida e é extremamente vantajosa.

- Um dos aspectos que merece uma maior atenção é a necessidade de se ter um stock de padrões que constituem um instrumento de capital importância neste tipo de trabalho.

- O plantio de eucaliptais em zonas onde abundam mosquitos, reduz a presença destes insectos e isso contribui em larga escala para a redução da malária. Este facto, habilita-nos a afirmar que, o plantio de eucaliptais tem múltiplas vantagens que, ao longo deste trabalho vêm sendo detalhados.

- Analisando os factos inerentes à variação do óleo obtido ao longo do ano, chega-se à conclusão de que, de facto, há uma alteração em termos de níveis (percentagem) de óleos essenciais. Quer dizer, para este caso concreto, seria de aconselhar a colheita e extração do óleo no Mês de Novembro em vez de Julho, pois maior rendimento é obtido em Novembro.

- As diferenças observadas nos rendimentos dos óleos do *E. Camaldulensis* pode ser explicada sobre várias vertentes: foi usado um aparelho muito mais sensível nesta segunda análise o que leva a crer que estes resultados são os mais reais, sabendo que fora usado na primeira análise um aparelho com sensibilidade baixa, o que exigia que as amostras fossem injectadas com grandes concentrações; as colunas usadas não foram as mesmas, o que provávelmente pode ter a sua quota parte nas diferenças observadas.

Deve-se ressaltar que as diferenças não tiram credibilidade ao trabalho realizado em 1996, com condições mais adversas que as actuais. Trata-se, portanto, de fazer um controle contínuo nos trabalhos que são realizados no Departamento de Química, usando as técnicas mais recentes a fim de confirmar e actualizar os resultados.

- Os Serviços Florestais de Namaacha deveriam pensar seriamente nas potencialidades que possuem em termos de recursos. Veja-se os cálculos prováveis de valores perdidos anualmente no ponto 4.7 da página 57 do presente trabalho.

- O mesmo é extensivo às plantações de Eucalipto de Marracuene. Portanto, um enorme potencial de recursos perdem-se, em particular, na vertente dos óleos essenciais.

- Considerando as percentagens dos constituintes maioritários alcançados, é de recomendar o seguinte aproveitamento das plantas:

Eucalipto	Composto derivado	Percentagem
Cinerea		
Citriodora 2a extracção	Citronelal	81.89
Citriodora 1ª extracção	β -citronelol	5.43
Grandis	α -pineno	36.69
Saligna de Marracuene		94.04
Saligna de Nam ^{cha} 2ª extrac.	α -pineno	36.31
Saligna de Nam ^{cha} 1ª extrac.	p-cimeno	19.29
Camaldulensis T12R	1,8 - cineol	71.25
Camaldulensis T4	β -pineno	11.86
Camaldulensis T12V	γ -terpineno	9.71

Referências Bibliográficas

- [1] - Abreu Matos F.J.(1988) - Introdução à Fitoquímica Experimental
Edições UFC - Fortaleza - Ceará - Brazil - pp 1 e 97
- [2] - Adams M.;Mendoza E.; Ospina N.; Luz S.(1983) - Study of the Essential Oil of Eucalyptus Citriodora - Revista Colombiana de Ciências Químico-farmacêutias nº 1 - Colombia - pp 95 -113
- [3] - Aldrich Catálogo Handbook of Fine Chemicals - USA - (1996 - 97)
- [4] - Alexéev V. Análise Quantitativa(1983) - Lopes da Silva Editora - 3a Edição - Porto- pp 48-51
- [5] - Artur and E: Rose(1977) - Handbook of Chemistry an Physics - 1st Student Edition - CRC Press, Inc. - Boca Raton, Flórida. - 7th Edition - Van Nostrand Reinhold Company - New York
- [6] - Batham, M.G. et.al.(1990) 3th Edition IFS -ICAT, Stockholm
- [7] - Browning D.R.(1971) - Cromatografia - Toray - Masson, SA - Barcelona - pp 51 - 117
- [8] - Chaves das Neves H.J. Introdução à Prática de CGL - Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia - Olivais - Edição UNL - pp71 - 86
- [9] - Chen Y., Yang L., Li S. J., Jiang Z.(1983) Study on the Chemical Components of the Essential Oil from the Leaves of Eucalyptus - Res. Inst. Chemical Process.- U3, no2 - pp 14 - 31- China
- [10] - Craveiro A.A.(1981) - Óleos Essenciais de Plantas de Nordeste - Edições UFC - Fortaleza - Ceará - Brasil - pp 204 - 208
- [11] - Cumbane, A.A. Estudo dos Óleos Essenciais de Origem Vegetal, Óleo Essencial do E. Camaldulensis. Tema de Licenciatura. pp 44 - UEM - Maputo
- [12] - De Riscala E.C., Juliani H.R., Fumarola M.J.(1976). Essential Oils of Eucalyptus Tereticórnis - Essenze Deriv. Agrum. - no2 pp 176 - 180 - Tucuman, Argentina
- [13] - Grande Enciclopédia Portuguesa e Brasileira, Volume X, Editorial Enciclopédia, Ltda - Lisboa - Rio de Janeiro.PP 617 - 618
- [14] - Gupta, P.K.; Mascarenhas,A.F.(1983) Basic Life Sci. Biochemistry Div., Natl. Chem. Laboratory, Poona City, Índia - pp 299-308.
- [15] - Hawley, Gessner G.(1977) The condensed Chemical Dictionary - 9th Edition Co-editor, Co-autor, Glossary of Chemical Terms - Van N. Reinhold Company - New York

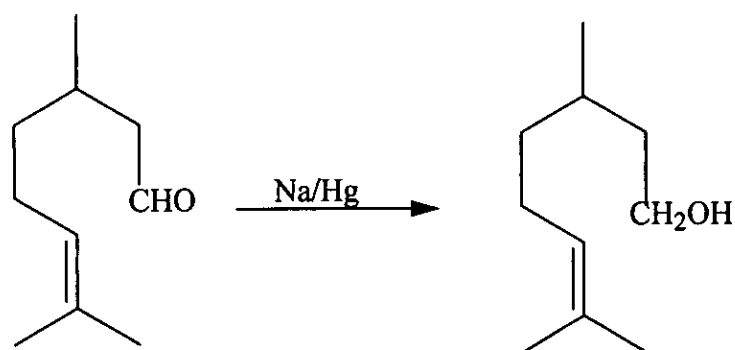
- [16] - Keulemans A.M.(1959) - Gas Chromatography 2nd Edition - Reinhold Publishing Corporation, New York - pp 560 - 688
- [17] - Jain S.S., Saoji A.N. Deshmukh V.K.(1978) - GLC Study of Volatile Oil of Eucalyptus Citriodora - India Jornal Pharmaceutical - Nagpur, Índia - no2 pp 57 - 58
- [18] - Lastra Valdes, Humberto A. Rodrigues G.(1981) - Eucaliptol Contents in Eucalyptus Specis Growing in Cuba - Revista Farmacêutica Cubana U15 no2 pp 101 - 105 - Havana - Cuba
- [19] - M.J. Funkel, O.H. Siegmund, A.M. Szenfraski (1960) - The Merk of Chemical and Drugs Index 7th Edition - Merk & Co. INC. - USA
- [20] - Manual das Aulas Práticas de Farmacognomia I - Portugal
- [21] - Normiella G., Hernandez A. - Análises Químico Cuantitativo - Faculdade de Tecnologia, Universidade de La Habana - pp 105 - 126
- [22] - Ntimane A.P.M.(1986) - Análise de Óleos Essenciais de Origem Vegetal por CFG (E. Camaldulensis). Tema de Licenciatura - UEM - Maputo pp 46
- [23] - Ohlweiler O.A.(1982) Química Analítica Quantitativa - Vol 1, 3a Edição Livros Técnicos e Científicos Editora, Lda. - Rio de Janeiro - S. Paulo pp 250 - 258
- [24] - Panda R., Panda H.(1987) - Studies on Eucalyptus Oil - Indian Tupertine and Rosin Co. Ltd. U113 no6 pp 434 - 440 - Barreilly, Índia
- [25] - Robert C. Weast, Ph.D Handbook of Chemistry an Physics - 1st Student Edition - CRC Press, Inc. - Boca Raton, Flórida.
- [26] - Sugimoto S., Kato T. Composition of Eucalyptus Oils - Cat. Customs Laboratory, Kanzei Chuo Bunsekisho Ho. - Japão - n23 pp31 - 34 -
- [27] - Urarov E.B., Chapman D.R.(1964) - Dicionário de Ciência - Publicação Europa - América Lda - Editora Penguin Books, Lda - Inglaterra - 1964 - pp 135 - 136
- [28] - Wagner, H. Bladt, S. e Zgainski, EM.(1984) - Plant Drug Analysis "A Thin Layer Chromatogrphy Atlas" - Berlim, Springer - Verlas Berlim Heidelberg - pp 38 - 39

Anexo - 1 . Compostos Maioritários

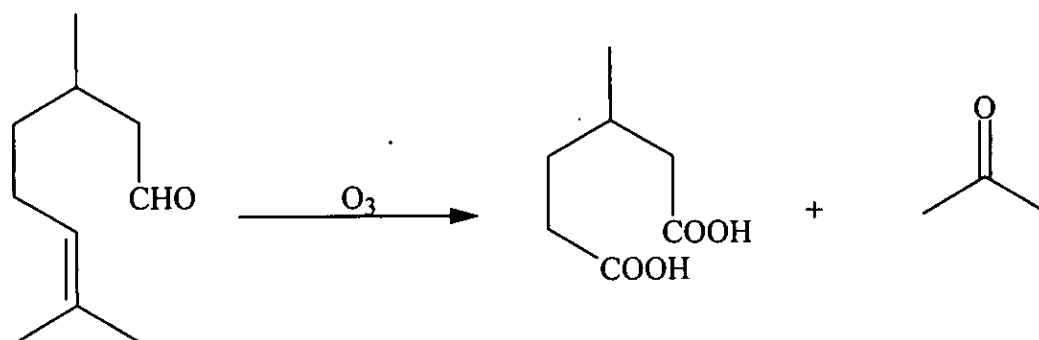
1.1 - Química de alguns componentes maioritários

1 - Citronelal

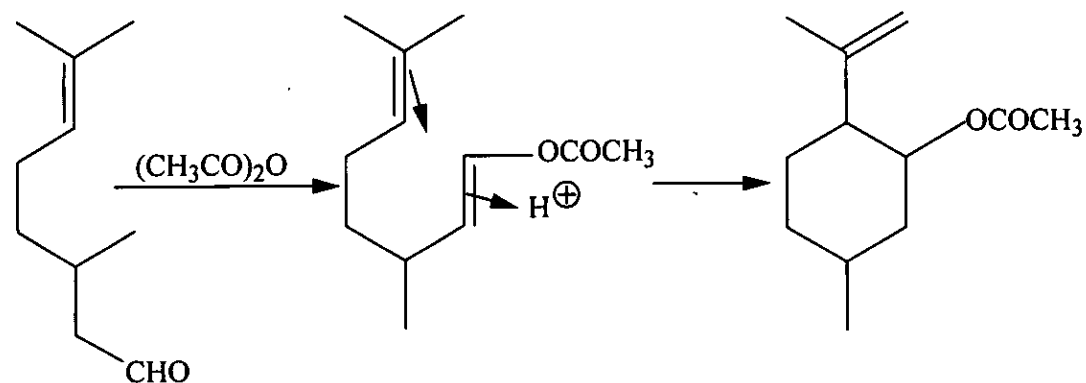
É um composto opticamente activo que ocorre no óleo de *Citronela*. É um *aldeído*; reduzindo-o com *amálgama de sódio* converte-se em *Citronelol* (álcool).



A oxidação do *Citronelal* com *ozono* produz o *ácido 3-metil adípico* e *acetona*.

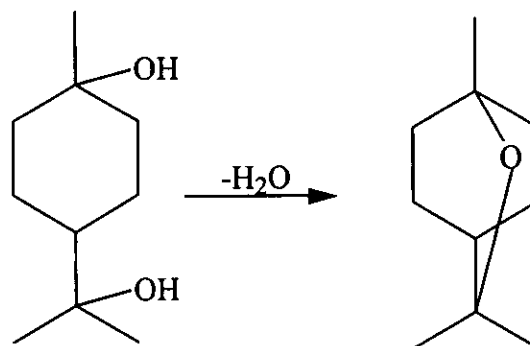


A reacção com o anidrido acético forma o acetato de isopulegola e, o enolacetato é o produto intermediário

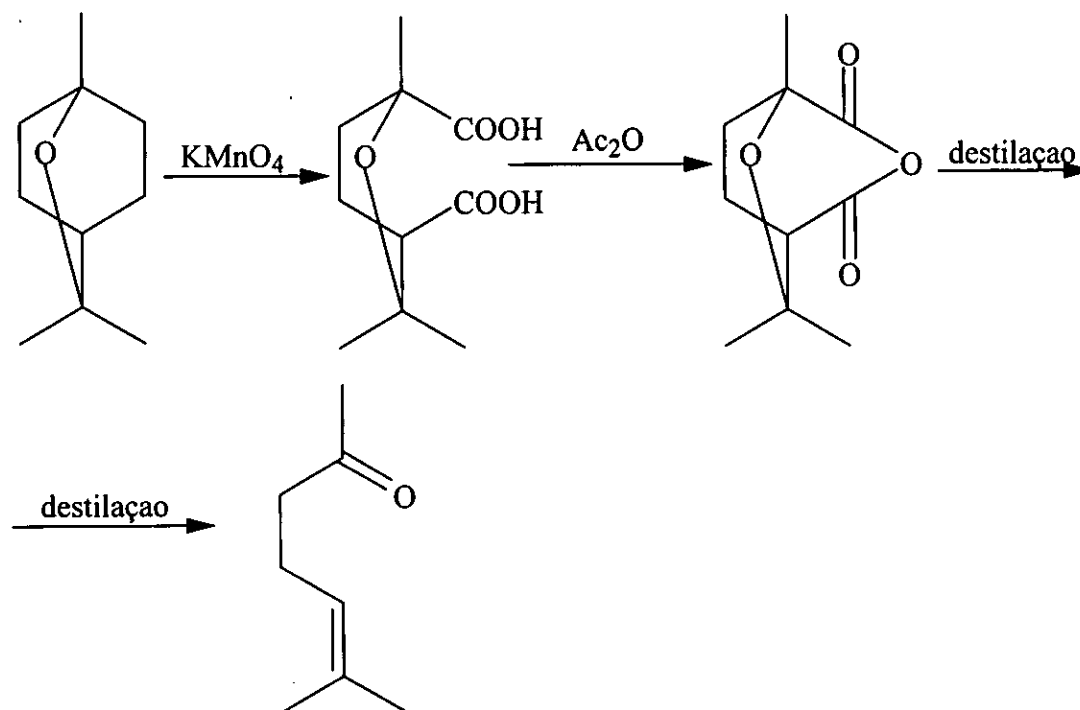


2 - 1,8-cineol

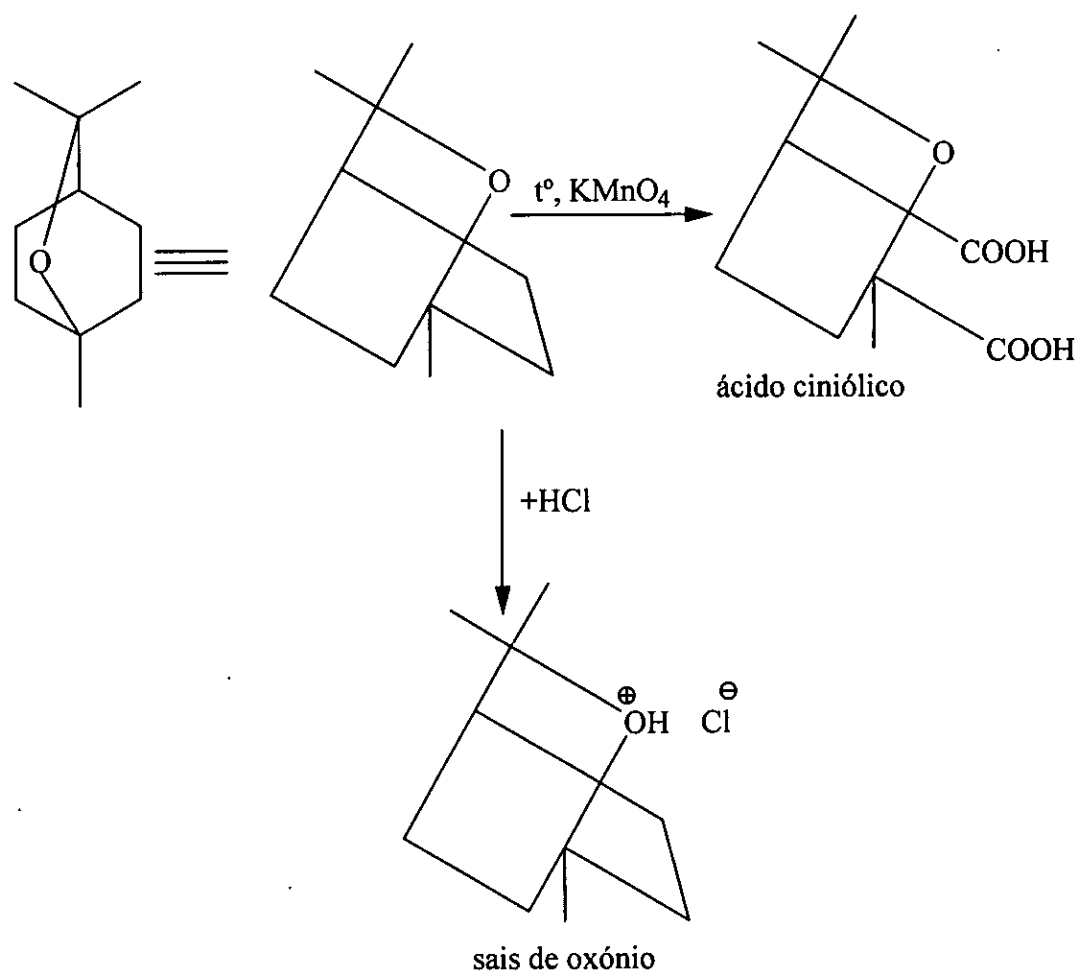
Ocorre nos óleos de Eucalipto. O átomo de oxigénio no *Cineol* é inerte, por exemplo, não é atacado pelo *sódio* ou por um usual agente redutor. Esta inércia, sugere que o átomo de oxigénio é do tipo *éter*. O suporte desta afirmação é o facto de a desidratação do *Cis-1,8-terpin* dar o *1,8-cineol*; ao mesmo tempo, esta reacção sugere que a estrutura do *Cineol* é a apresentada.



O KMnO_4 oxida-o dando o *ác. Cineólico*. Por outro lado, o seu anidrido, por destilação dá o *6-metil hepta-5-en-2-ona*.

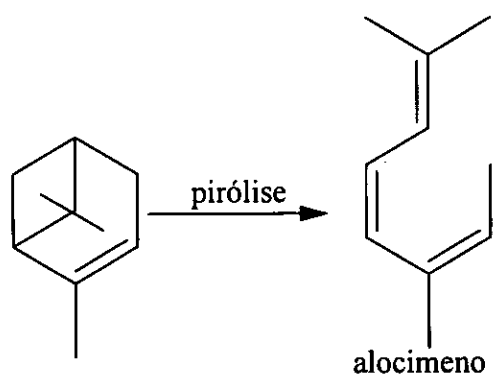


À temperatura elevada, reage com o permanganato de potássio formando o ácido cineólico e, ao reagir com o ácido clorídrico, forma o sal de oxónio.

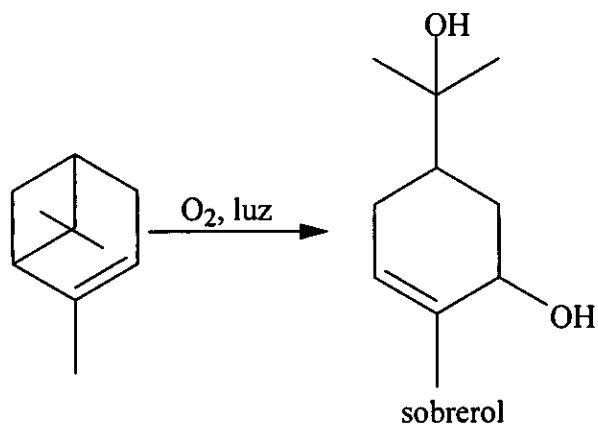


3 - α -pineno

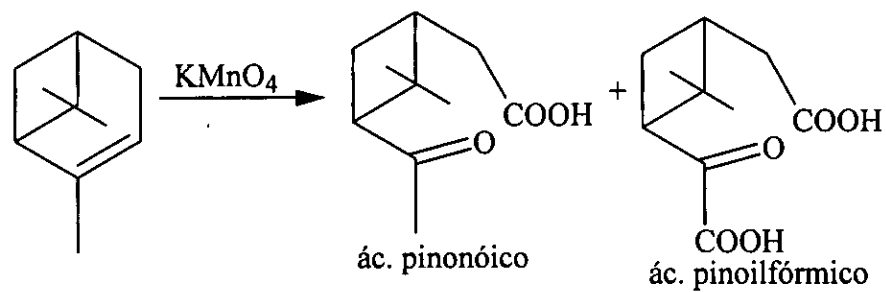
A pirólise do α -pineno forma o alocimeno



A sua oxidação pelo oxigénio do ar, na presença da luz solar, forma o Sobrerol



A oxidação do α -pineno pelo permanganato de potássio, transforma-o em ácido pinonóico e ácido pinoilfórmico



Anexo - 2 . CCF

Tanto as amostras como os padrões foram antes dissolvidos em n-heptano na proporção de 1:10.

2.1 - Amostras

A - Saligna de Namaacha
C - Cinerea
E - Paniculata
G - Tereticórnis

B - Citriodora
D - Saligna de Marracuene
F - Grandis

2.2 - Padrões

p₁ - α -pinoeno
p₃ - p-cimeno
p₅ - β -citronelol

p₂ - 1,8-cineol
p₄ - Citronelal
p₆ - Limoneno

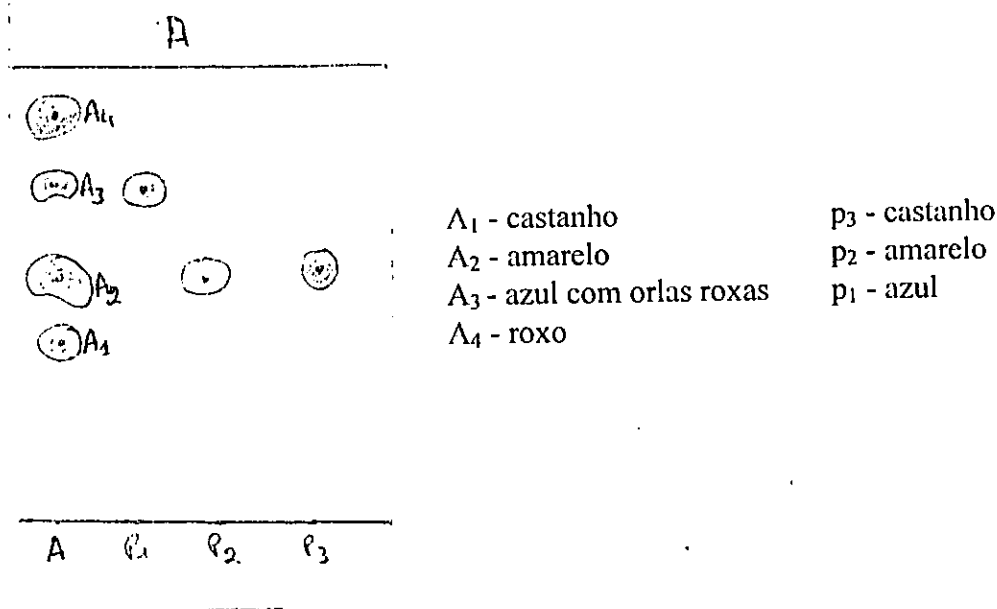
2.3 - Cromatoplasmas de A a G

Foram usadas placas comerciais de alumínio cortadas no tamanho ideal.

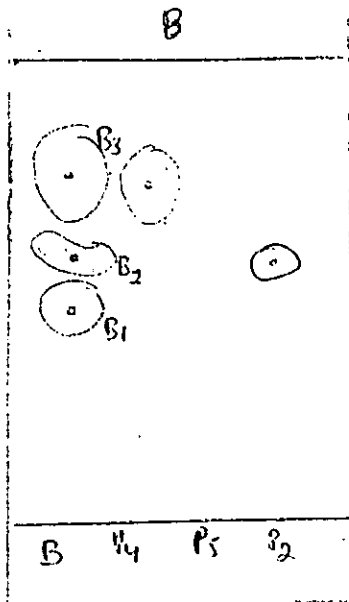
F₁ - Linha onde estão dispostos os padrões e as amostras. Início da eluição.

F₂ - Fim da eluição (frente do solvente).

F_1 a F_2 = distância percorrida pela frente do solvente = 6cm



Cromatoplasmas de A a G (Continuação)

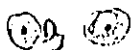


B₁ - amarelo
B₂ - amarelo acastanhado
B₃ - amarelo

p₂ - amarelo
p₄ - amarelo
p₅ - não ocorre

Cromatoplasmas de A a G (Continuação)

D



D₁ - roxo
 D₂ - castanho
 D₃ - azul
 D₄ - castanho

p₃ - castanho
 p₁ azul

D p₁ p₃

E



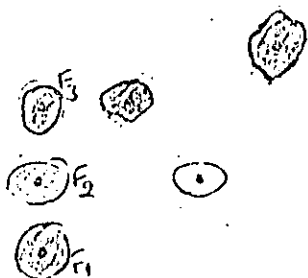
E₁ - amarelo
 E₂ - roxo
 E₃ - castanho

p₂ - amarelo
 p₁ - roxo
 p₆ - amarelo

E p₂ p₁ p₆

Cromatoplasmas de A a G (Continuação)

F

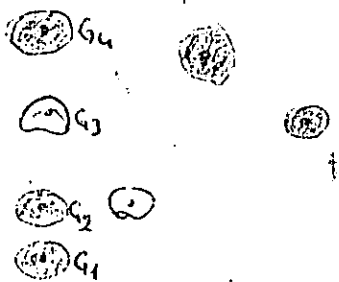


F₁ - castanho
 F₂ - castanho
 F₃ - castanho

p₂ - amarelo
 p₁ - roxo
 p₆ - roxo

F p₁ p₂ p₆

G



G₁ - roxo
 G₂ - roxo
 G₃ - roxo
 G₄ - castanho

p₂ - amarelo
 p₁ - azul
 p₆ - roxo

G p₂ p₆ p₁

2.4 - Cálculo de Rf

A distância percorrida pela frente do solvente desde a origem é de 6cm.

Tabela 23 - cálculo de Rf de Saligna de Namaacha e de Citriodora

<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>	<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>
<i>A₁</i>	2.30	0.38	<i>B₁</i>	2.80	0.47
<i>A₂</i>	3.20	0.53	<i>B₂</i>	3.40	0.57
<i>A₃</i>	4.40	0.73	<i>B₃</i>	4.50	0.75
<i>A₄</i>	5.30	0.88	<i>P₄</i>	4.40	0.73
<i>P₁</i>	4.30	0.72	<i>P₅</i>	-	-
<i>P₂</i>	3.10	0.52	<i>P₂</i>	3.30	0.55
<i>P₃</i>	3.30	0.55			

Tabela 24 - cálculo de Rf de Cinerea e de Saligna de Marracuene

<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>	<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>
<i>C</i>			<i>D₁</i>	2.30	0.38
<i>C</i>			<i>D₂</i>	3.20	0.53
<i>C</i>			<i>D₃</i>	4.20	0.70
<i>C</i>			<i>D₄</i>	5.40	0.90
			<i>P₁</i>	4.20	0.70
			<i>P₃</i>	3.10	0.52

Cálculo de Rf (Continuação)

Tabela 25 - cálculo de Rf de Paniculata e de Grandis

<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>	<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>
<i>E₁</i>	3.00	0.50	<i>F₁</i>	2.30	0.38
<i>E₂</i>	4.40	0.73	<i>F₂</i>	3.10	0.52
<i>E₃</i>	5.40	0.90	<i>F₃</i>	4.10	0.68
<i>P₂</i>	3.11	0.52	<i>P₁</i>	4.20	0.70
<i>P₁</i>	4.30	0.72	<i>P₂</i>	3.10	0.52
<i>P₆</i>	5.20	0.87	<i>P₆</i>	4.90	0.82

Tabela 26 - cálculo de Rf de Tereticórnis

<i>mancha</i>	<i>distância</i>	<i>Rf</i>
<i>G₁</i>	2.30	0.38
<i>G₂</i>	3.00	0.50
<i>G₃</i>	4.20	0.70
<i>G₄</i>	5.30	0.88
<i>p₂</i>	3.00	0.50
<i>p₆</i>	4.90	0.82
<i>p₁</i>	4.10	0.68

2.5 - Intervalo de Rf dos Padrões e P^{tos} coincidentes nas amostras de óleos

Tabela 27 - Intervalos de Rf e pontos coincidentes nas amostras

<i>Padrão</i>	<i>Intervalo Rf</i>	<i>mancha</i>	<i>mancha</i>	<i>mancha</i>	<i>mancha</i>	<i>mancha</i>
<i>P₁</i>	0.68 - 0.72	A ₃	D ₃	E ₂	F ₃	G ₃
<i>P₂</i>	0.50 - 0.52	A ₂	B ₂	E ₁	F ₂	G ₂
<i>P₃</i>	0.52 - 0.55	A ₂	D ₂			
<i>P₄</i>	0.73	B ₃				
<i>P₅</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P₆</i>	0.82 - 0.87	E ₃	G ₄			

2.6 - Compostos existentes nos óleos

Considerando os valores de Rf, os compostos existentes nos óleos são os seguintes:

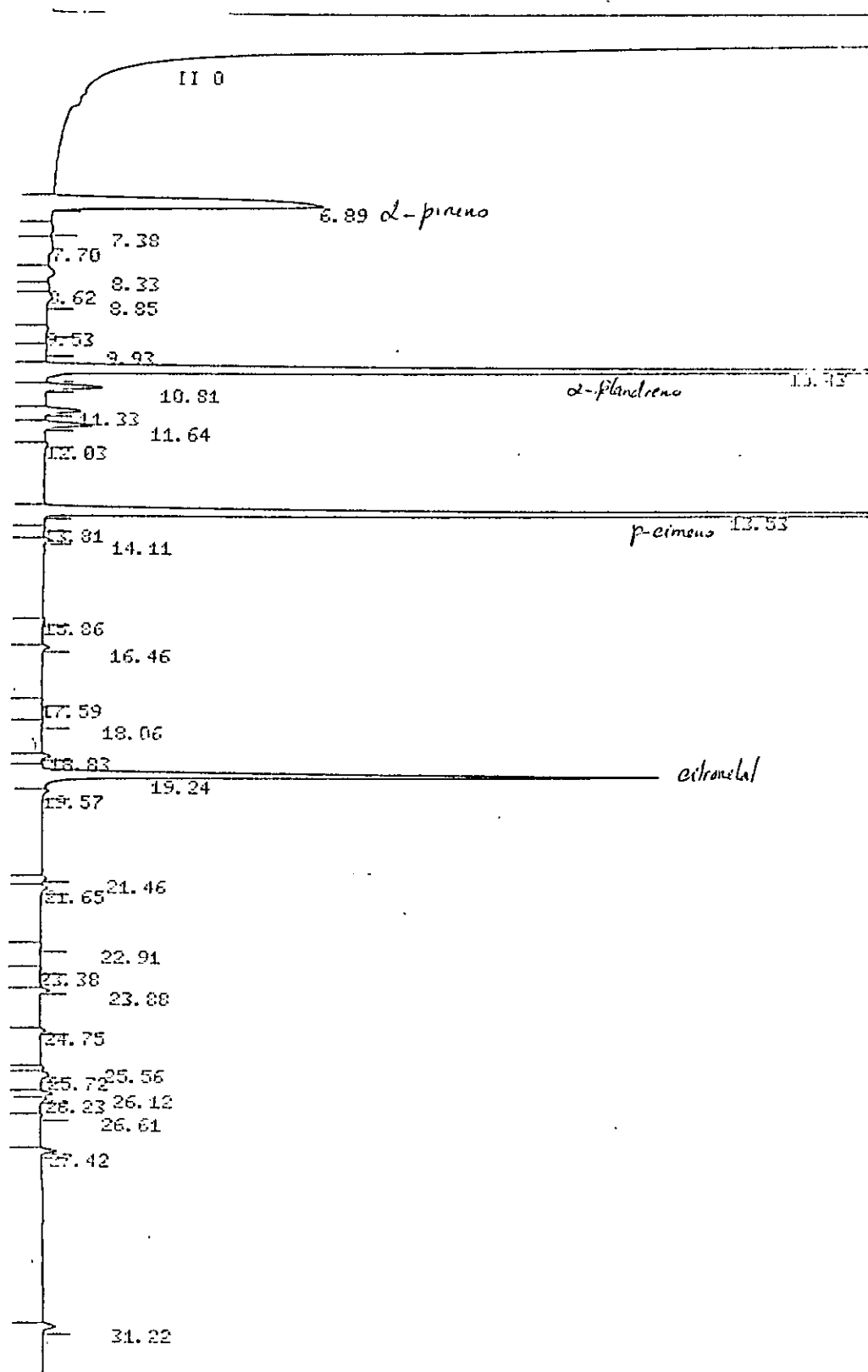
Tabela 28 - compostos existentes nos óleos

<i>Amostra</i>	<i>Composto - 1</i>	<i>Composto - 2</i>	<i>Composto - 3</i>
Saligna de Nam ^{cha}	α-pineno	1,8-cineol	p-cimeno
Citriodora	1,8-cineol	Citronelal	
Saligna de Marc ^{ne}	α-pineno	p-cimeno	
Paniculata	α-pineno	Limoneno	1,8-cineol
Grandis	α-pineno	1,8-cineol	
Tereticórnis	α-pineno	Limoneno	1,8-cineol
Cinerea			

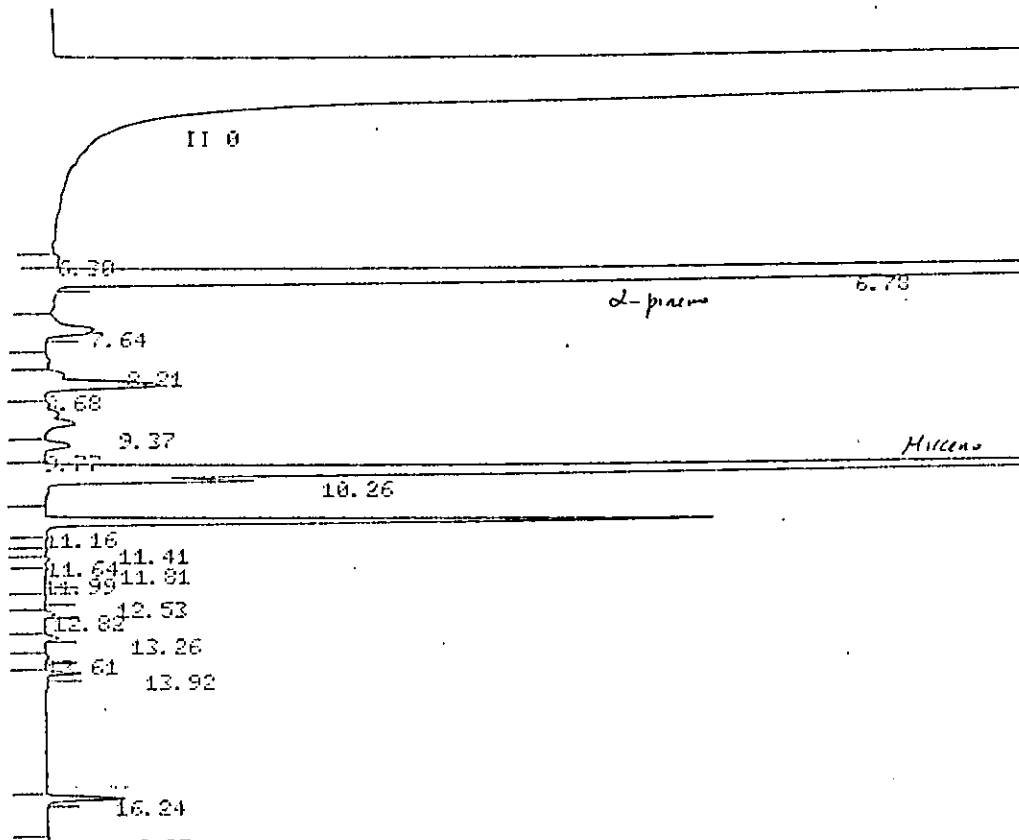
Anexo - 3 . CFG

3.1 - Cromatogramas CFG dos padrões - Coluna capilar, polar DB-Wax

3.1.1 - α -pineno, α -felandreno, p-cimeno e Citronelal



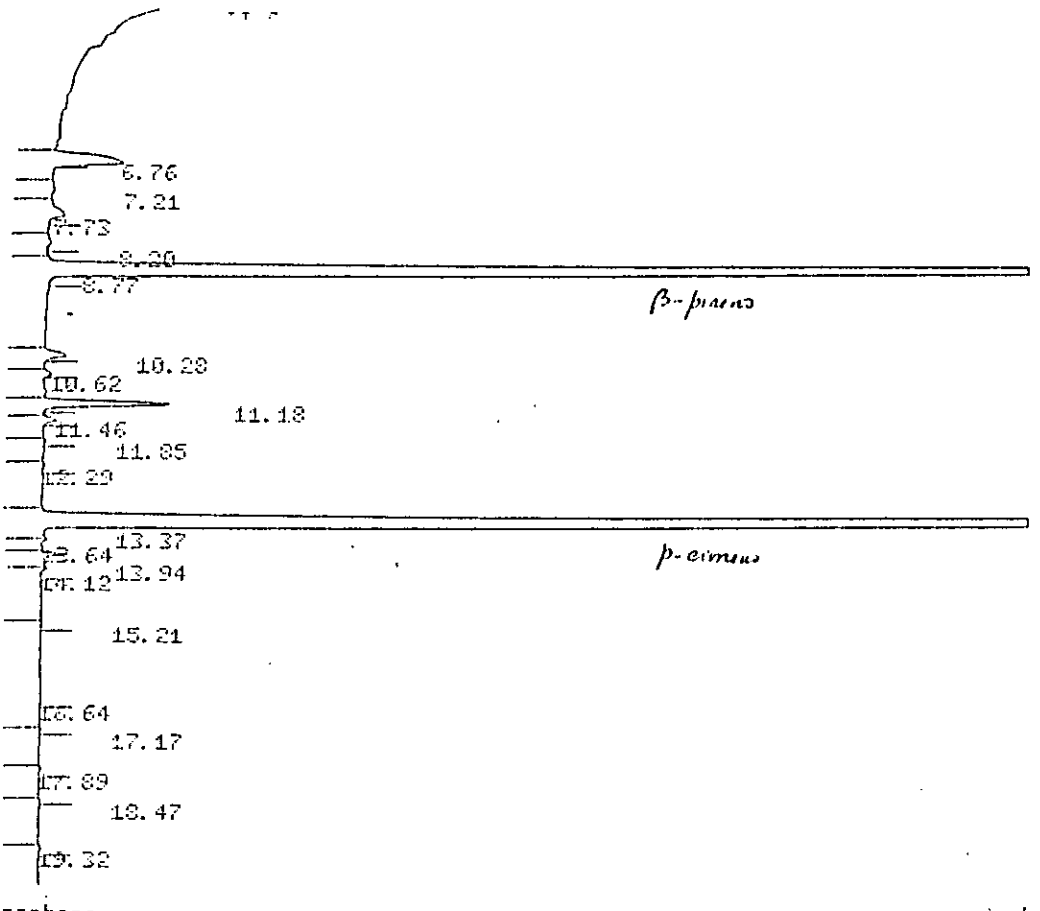
3.1.2 - α -pineno e Mirreno



INPUT OVERRANGE AT RT= 3.19

PERK#	FILE 1.	METHOD 0.	RT	RUN 1	RRER BC	INDEX 1
1		0.039	6.78	775 02		
2		52.898	6.78	463054 03		
3		1.016	7.64	8894 01		
4		0.081	8.21	708 02		
5		2.153	8.68	18847 02		
6		0.755	9.37	6607 02		
7		0.363	9.77	3179 02		
8		33.574	10.26	293896 02		
9		6.08	11.16	53224 02		
10		0.038	11.41	332 02		
11		0.028	11.64	241 02		
12		0.048	11.81	422 02		
13		0.036	11.99	316 03		
14		0.014	12.53	124 01		
15		0.077	12.82	676 01		
16		0.112	13.26	978 01		
17		0.053	13.81	291 01		
18		0.19	13.92	1663 01		
19		0.604	15.24	5287 01		
20		0.013	15.95	114 01		
21		0.013	17.14	113 01		
22		0.03	17.35	261 01		
23		0.015	18.95	129 01		
24		0.009	19.29	80 01		
25		0.018	19.94	161 01		
26		0.027	21.26	240 02		
27		0.657	21.42	5749 03		
28		0.062	22.66	539 01		
29		0.118	23.16	1037 01		
30		0.534	23.64	4647 01		
31		0.17	24.43	1491 01		
32		0.074	26.05	651 01		
33		0.014	28.49	126 01		
34		0.043	34.28	376 01		
35		0.016	35.56	137 01		
TOTAL		100.		375365		

3.1.3 - β -pineno e p-cimeno

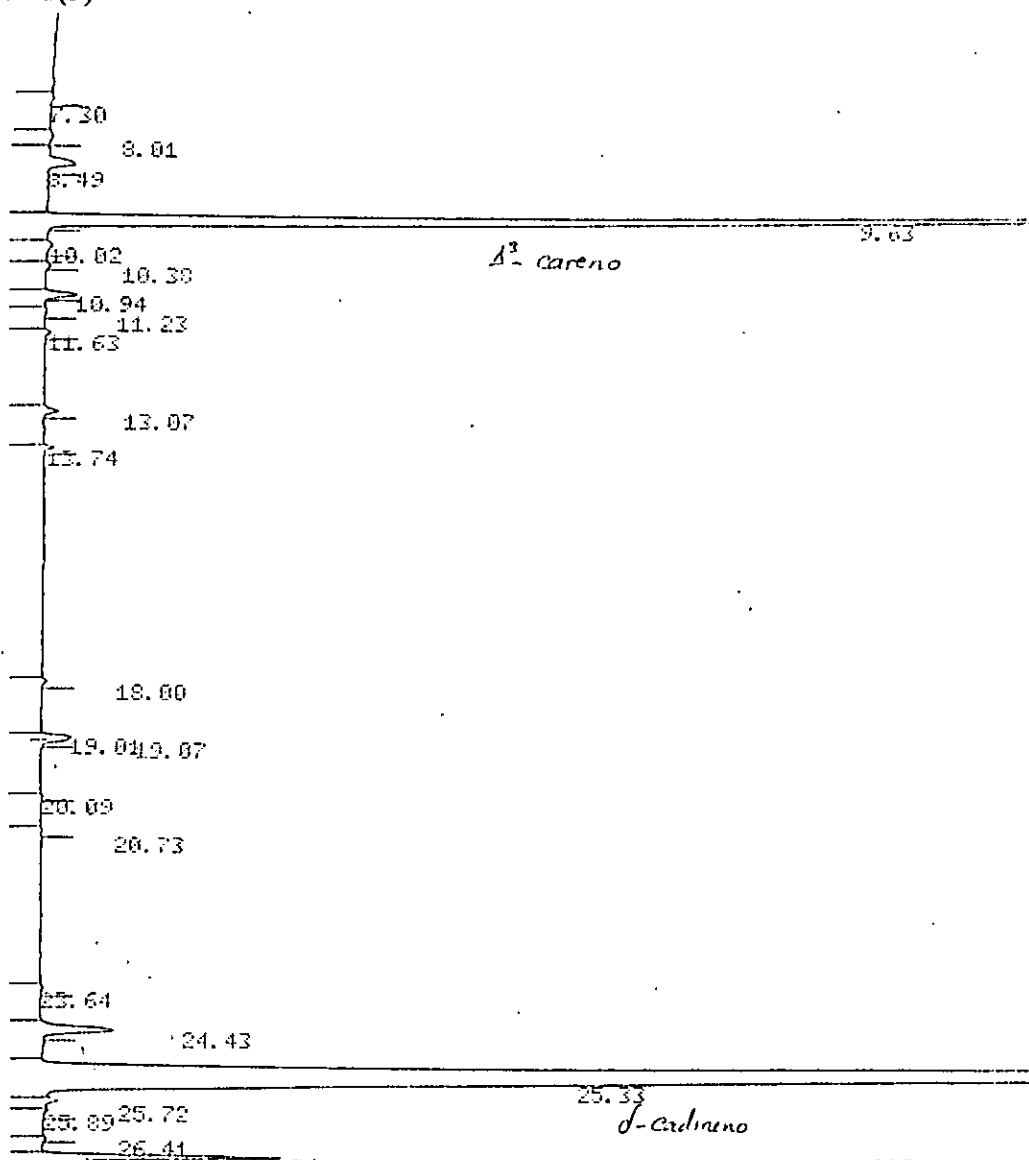


610

PEAK#	RT	AREA	RT	AREA	INDEX
1	6.76	14805	01		
2	7.21	570	02		
3	7.73	3026	03		
4	8.2	389	01		
5	8.77	217937	01		
6	10.28	2350	01		
7	10.62	558	01		
8	11.18	11390	01		
9	11.46	1115	01		
10	11.85	143	01		
11	12.29	173	01		
12	12.37	173	01		
13	13.37	404109	02		
14	13.64	490	02		
15	13.94	1882	02		
16	14.12	498	03		
17	15.21	98	01		
18	16.64	81	01		
19	17.17	108	01		
20	17.89	172	01		
21	18.47	75	01		
22	19.32	243	01		
23	20.79	474	02		
24	21.3	3526	02		
25	21.44	710	02		
26	21.64	2694	03		
27	21.91	112	01		
28	22.7	3227	02		
29	22.94	2728	03		
30	23.2	550	01		
31	23.46	13050	08		
32	23.67	126	05		
33	24.49	491	01		
34	24.8	129	01		
35	25.9	266	01		
36	26.09	2215	03		
37	26.74	10538	03		
38	27.83	136	02		
39	27.94	255	03		
40	28.89	2856	01		
41	29.51	174	01		
42	30.25	632	01		
43	32.27	495	01		
44	35.57	202	01		
TOTAL		703006			

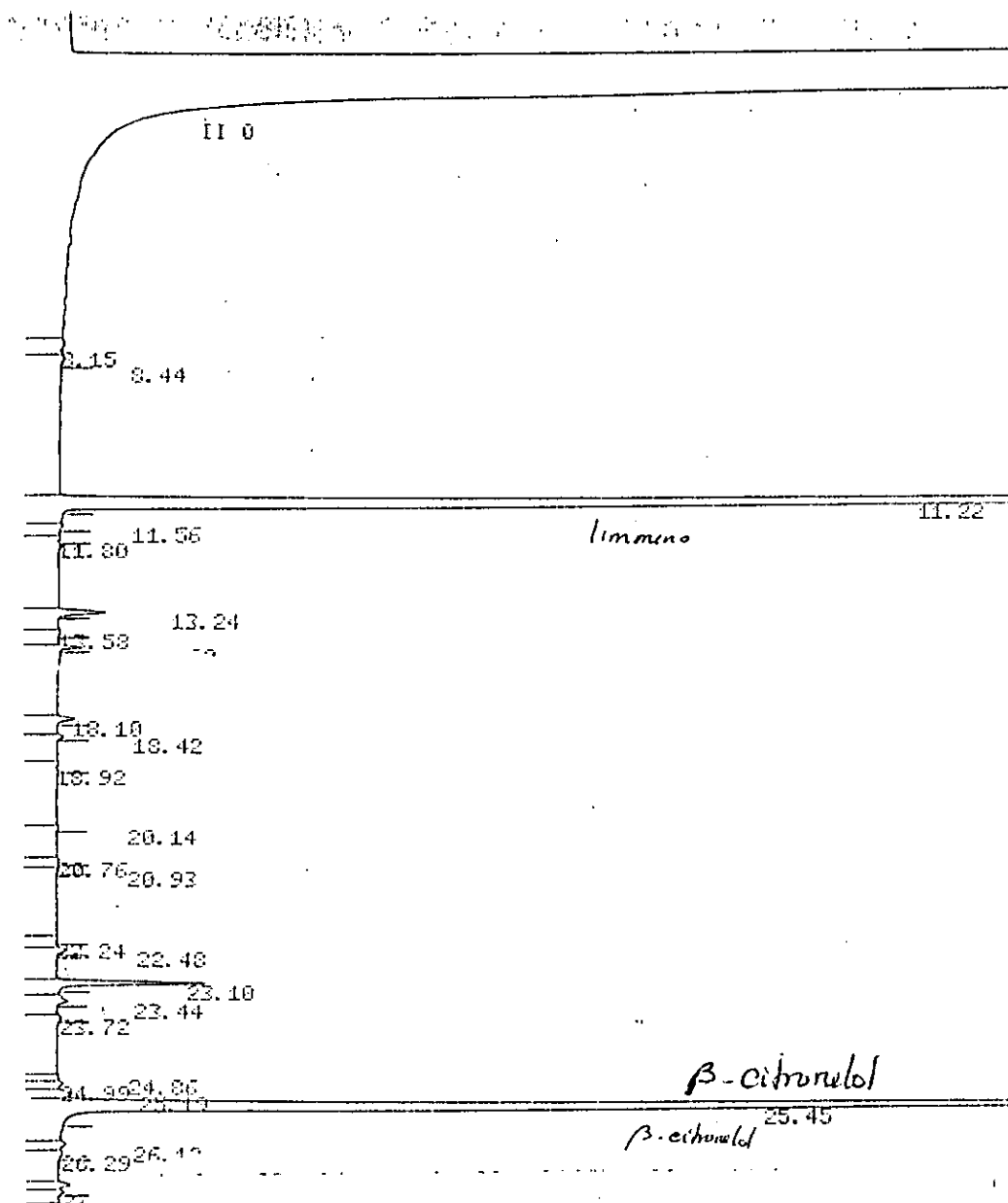
3.1.4 - d(3)- careno e d-cadineno

0.00



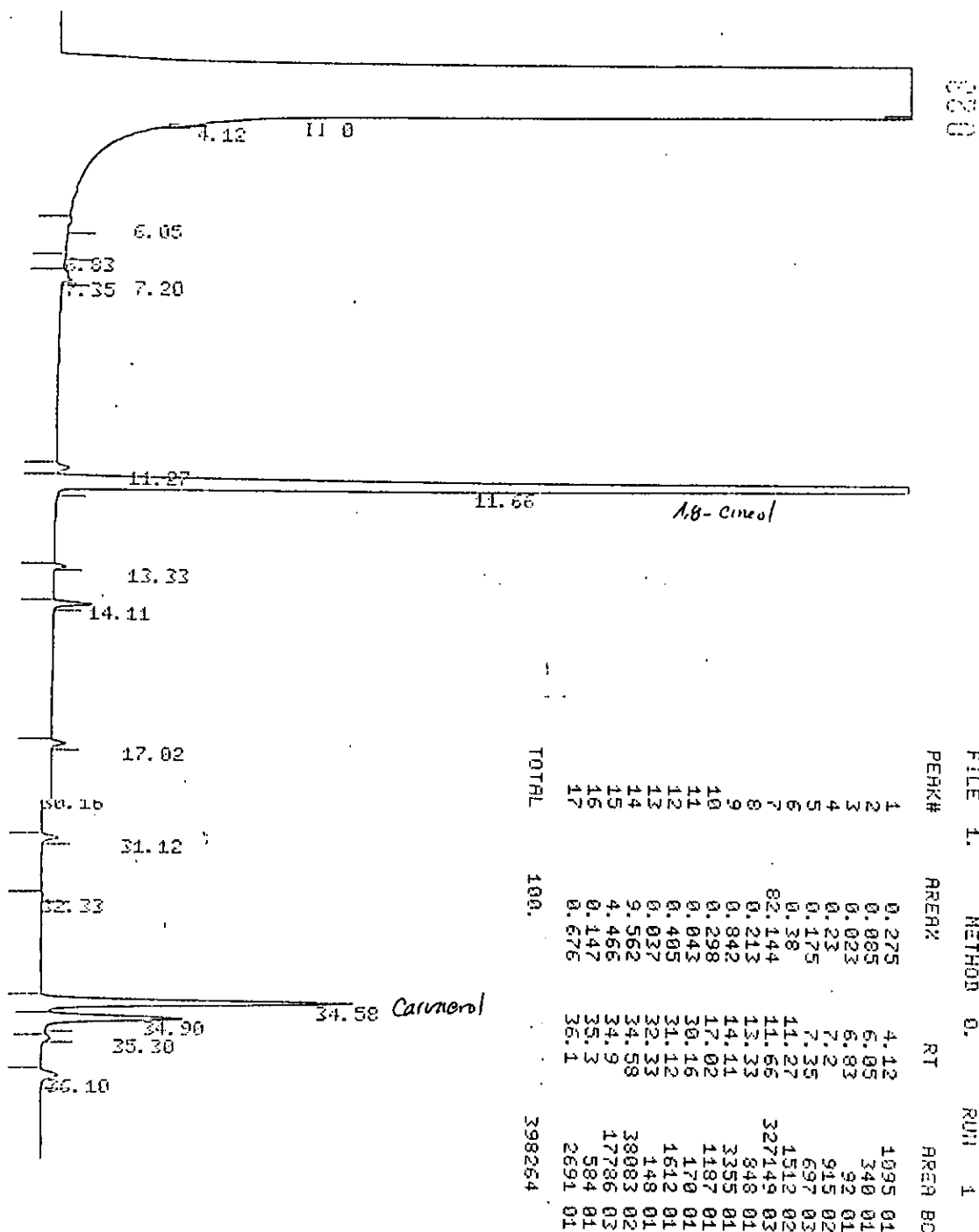
PK#	RT	AREA	PERC	PK#	RT	AREA	PERC
1	7.3	204	0.036	10	13.07	610	0.149
2	8.01	480	0.067	11	15.74	341	0.072
3	8.49	2919	0.463	12	18.00	2200	0.26
4	9.63	142367	16.831	13	19.01	1304	0.154
5	10.02	684	0.081	14	19.07	123	0.015
6	10.38	293	0.046	15	20.09	99	0.012
7	10.94	2748	0.324	16	20.73	217	0.026
8	11.23	182	0.021	17	23.64	8192	0.112
9	11.63	419	0.049	18	24.43	1504	0.044
10	13.07	1263	0.149	19	25.33	212	0.025
11	15.74	610	0.072	20	25.72	376	0.044
12	18.00	241	0.04	21	25.89	17948	2.119
13	19.01	2200	0.26	22	26.41	146	0.014
14	19.07	1304	0.154	23	27.52	75	0.009
15	20.09	123	0.015	24	27.79	146	0.014
16	20.73	99	0.012	25	27.99	146	0.014
17	23.64	217	0.026	26	28.44	6628	0.082
18	24.43	8192	0.112	27	28.79	207	0.024
19	25.33	1504	0.044	28	29.03	970	0.115
20	25.72	376	0.044	29	29.27	2576	0.304
21	25.89	17948	2.119	30	29.51	1576	0.186
22	26.41	146	0.014	31	29.75	3559	0.42
23	27.52	75	0.009	32	31.3	648	0.077
24	27.79	146	0.014	33	31.57	742	0.088
25	27.99	146	0.014	34	31.57	742	0.088
26	28.44	6628	0.082	35	32.55	99	0.012
27	28.79	207	0.024	36	32.55	99	0.012
28	29.03	970	0.115	37	33.16	151	0.023
29	29.27	2576	0.304	38	34.13	814	0.095
30	29.51	1576	0.186	39	35.19	621	0.073
31	29.75	3559	0.42	40	36.26	299	0.035
32	31.3	648	0.077	41	36.58	479	0.057
33	31.57	742	0.088	42	38.64	2938	0.354
34	31.57	742	0.088	43	39.13	725	0.086
35	32.55	99	0.012	43	39.44	675	0.102
36	32.55	99	0.012				
37	33.16	151	0.023				
38	34.13	814	0.095				
39	35.19	621	0.073				
40	36.26	299	0.035				
41	36.58	479	0.057				
42	38.64	2938	0.354				
43	39.13	725	0.086				
43	39.44	675	0.102				

3.1.5 - Limoneno e β -citronelol



PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.059	8.15	293.02
2	0.085	8.44	424.03
3	53.271	11.22	265240.01
4	0.041	11.56	296.01
5	0.008	11.80	42.01
6	0.677	13.24	3372.01
7	0.04	13.58	199.01
8	0.243	13.9	1212.01
9	0.253	18.1	1258.01
10	0.081	18.42	401.01
11	0.025	18.92	122.01
12	0.024	20.14	118.01
13	0.03	20.76	147.01
14	0.024	20.93	120.01
15	0.014	22.24	69.01
16	0.148	22.48	737.01
17	1.948	23.1	9697.01
18	0.234	23.44	1164.01
19	0.069	23.72	345.01
20	0.029	24.86	142.02
21	0.091	24.99	451.02
22	0.267	25.19	1328.02
23	41.541	25.45	206834.03
24	0.104	26.12	520.02
25	0.072	26.29	359.03
26	0.177	26.88	879.02
27	0.084	27.02	417.03
28	0.035	27.29	272.01
29	0.081	27.5	403.01
30	0.062	30.83	307.02
31	0.067	31.01	336.03
32	0.04	33.43	201.01
33	0.058	34.49	288.01
TOTAL	100.		497903

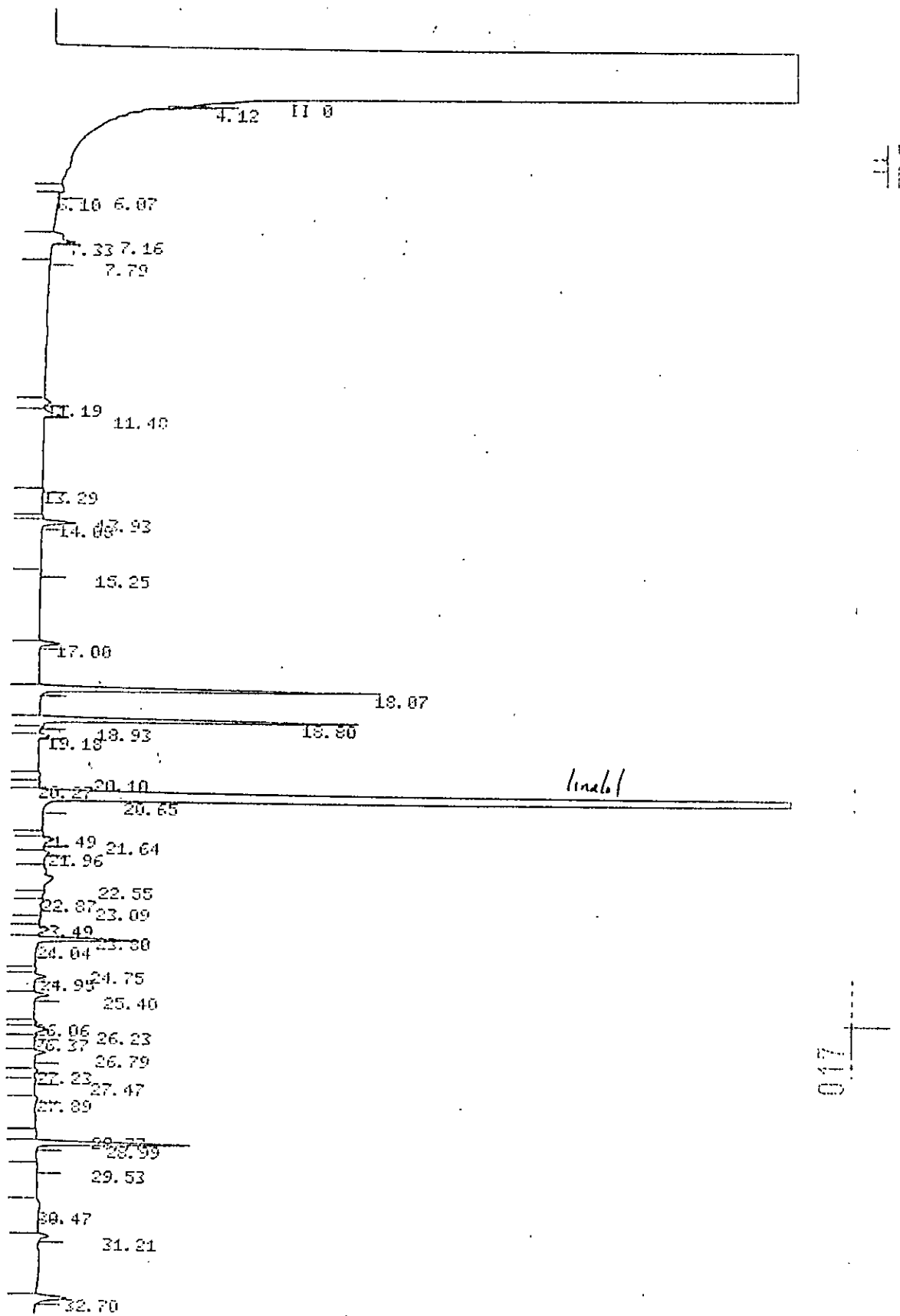
3.1.6 - 1,8-cineol e Carvacrol



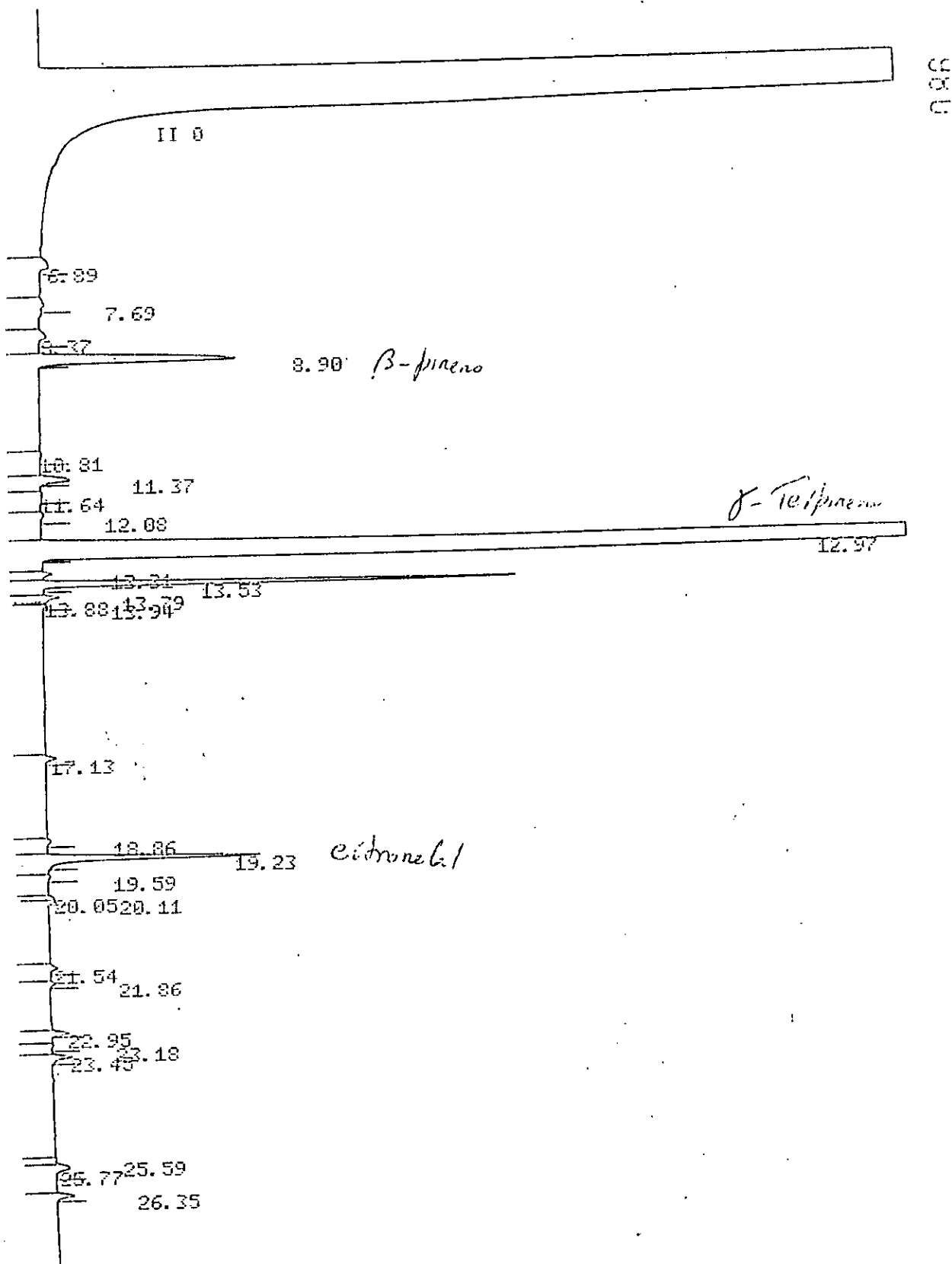
03/26/99 09:31:43

FILE 1. METHOD 0. RUN 1 INDEX 1

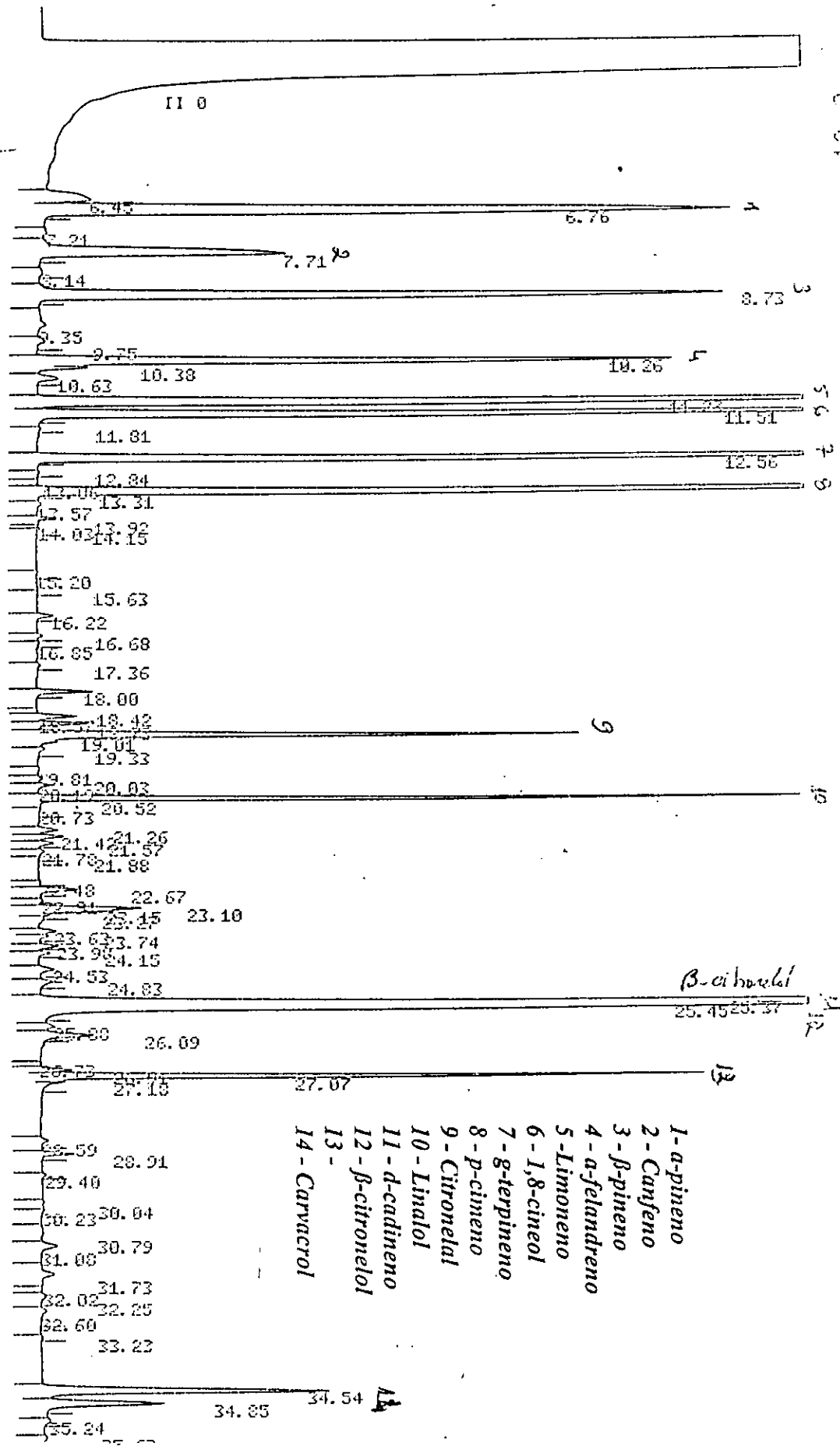
3.1.7 - Linalol



3.1.8 - β -pineno, γ -terpineno e Citronelal

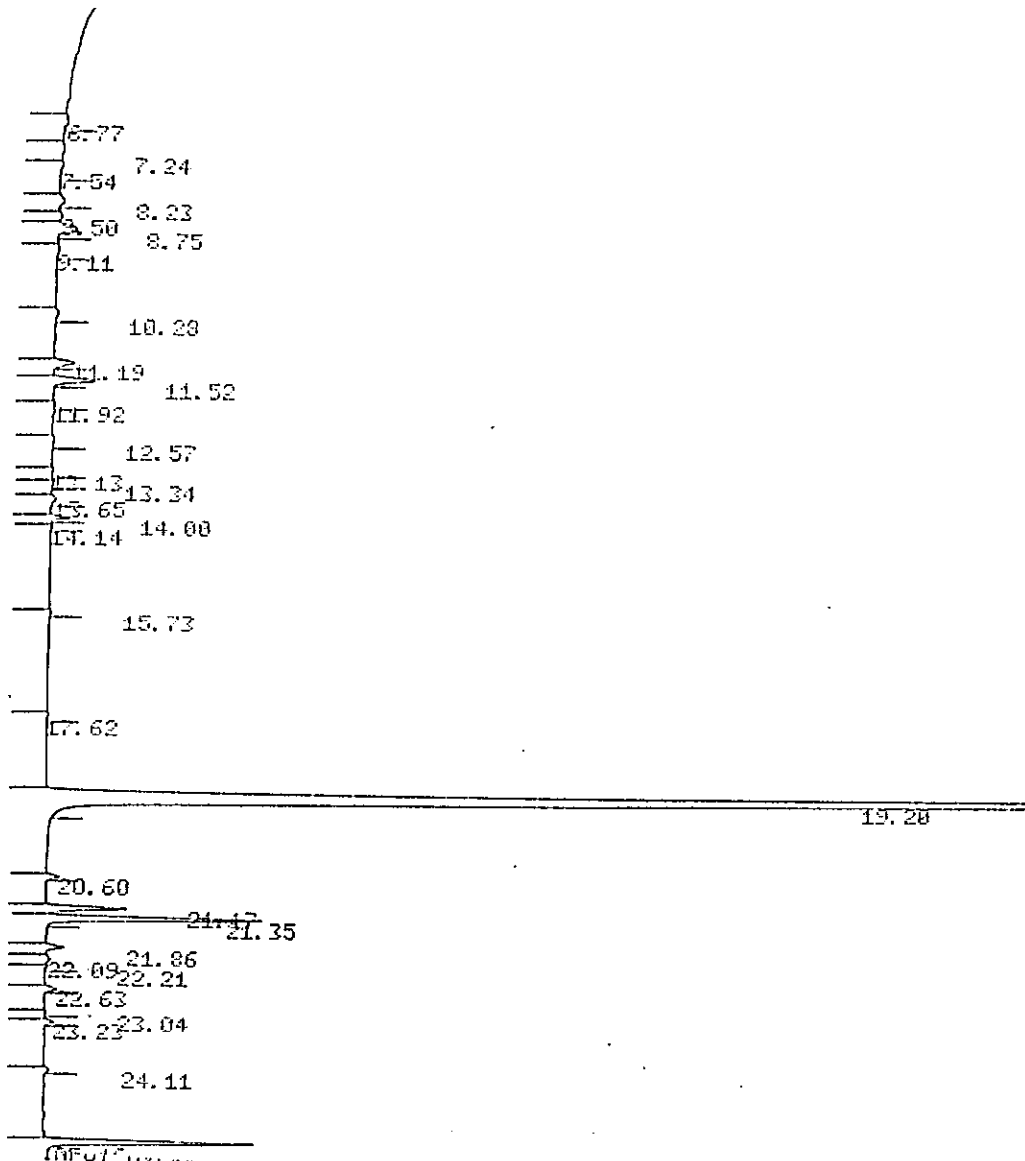


3.1.9 - Mistura de padrões



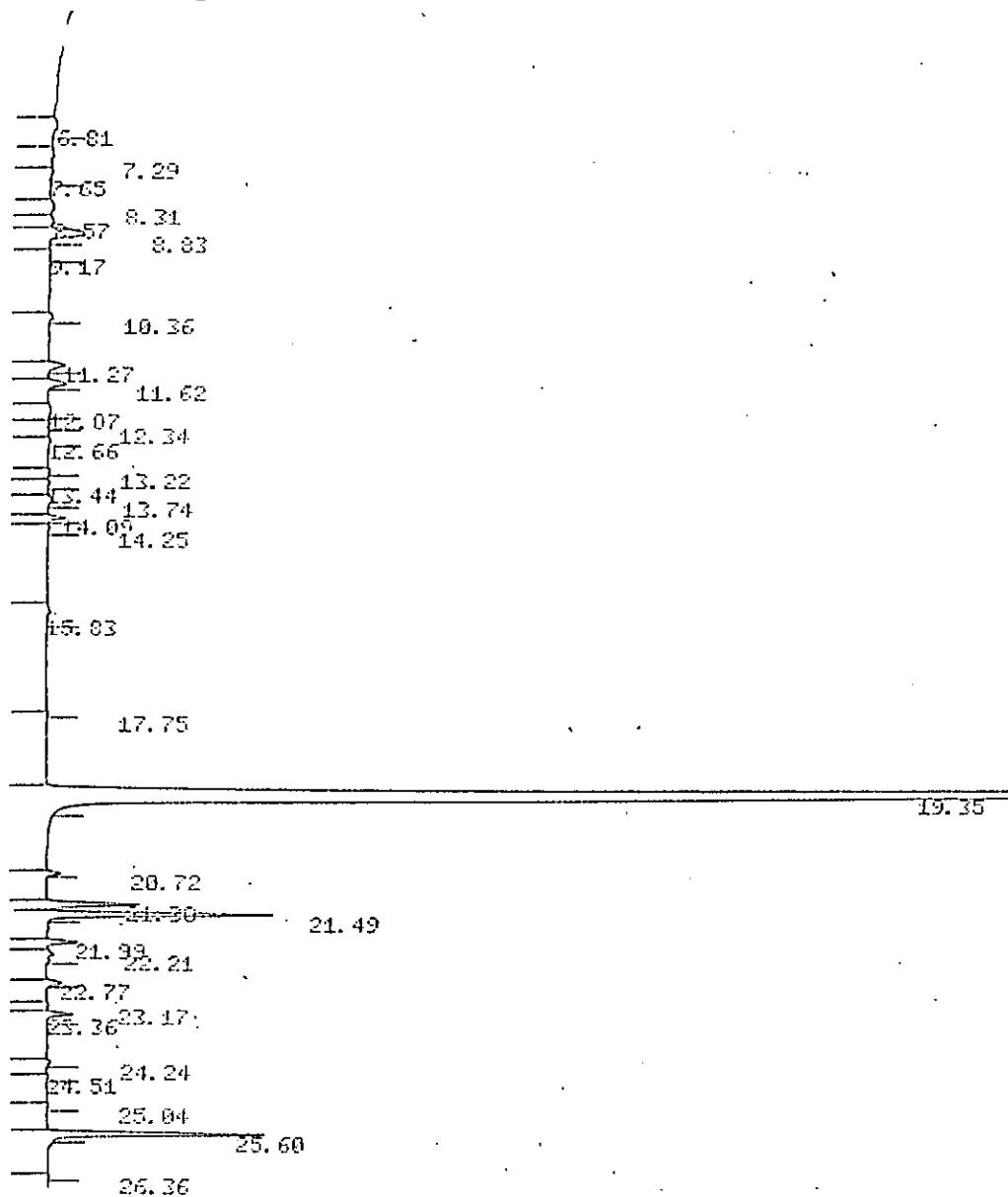
3.2 - Cromatogramas CFG das Amostras - Coluna capilar, polar DB-Wax

3.2.1 - Cromatograma de E. Citriodora 1ª extração - C. Normal



PERK#	AREA%	RT	RUN	AREA
1	0.217	6.77	570	01
2	0.19	7.24	497	02
3	0.15	7.54	394	03
4	0.301	8.23	788	01
5	0.146	8.75	383	02
6	1.008	9.11	2642	03
7	0.108	10.28	282	01
8	0.153	11.19	400	01
9	0.69	11.52	1809	01
10	1.445	11.92	3789	01
11	0.048	12.57	125	01
12	0.081	13.34	213	01
13	0.045	13.34	118	01
14	0.06	13.34	158	01
15	0.19	14.00	497	01
16	0.423	14.14	1109	01
17	0.049	15.73	129	01
18	0.052	17.62	136	01
19	0.034	17.62	89	01
20	79.615	19.28	208762	01
21	0.298	20.60	781	01
22	2.054	21.17	5386	02
23	3.5	21.35	14422	03
24	0.481	21.86	1262	08
25	0.188	22.09	488	06
26	0.063	22.21	164	07
27	0.301	22.63	788	01
28	0.038	23.04	99	01
29	0.214	23.23	561	01
30	0.117	24.11	307	01
31	0.48	25.48	14370	01
32	0.044	26.21	115	01
33	0.037	27.17	98	01
34	0.032	27.98	84	01
35	0.152	30.89	399	01
TOTAL	100.		262214	

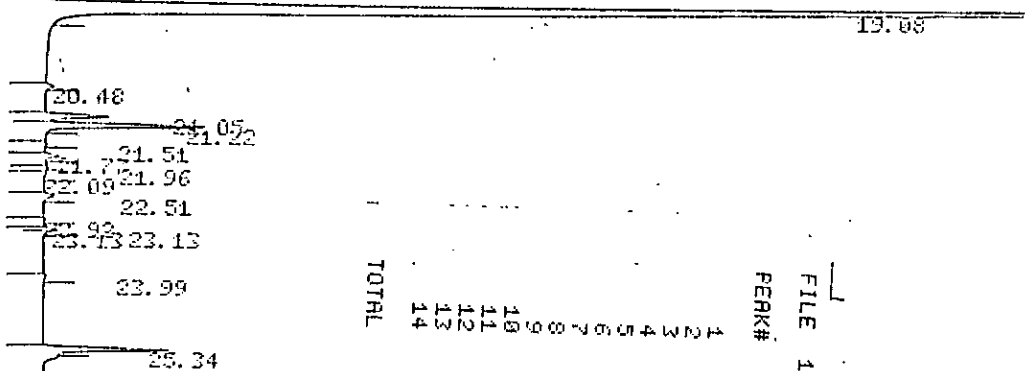
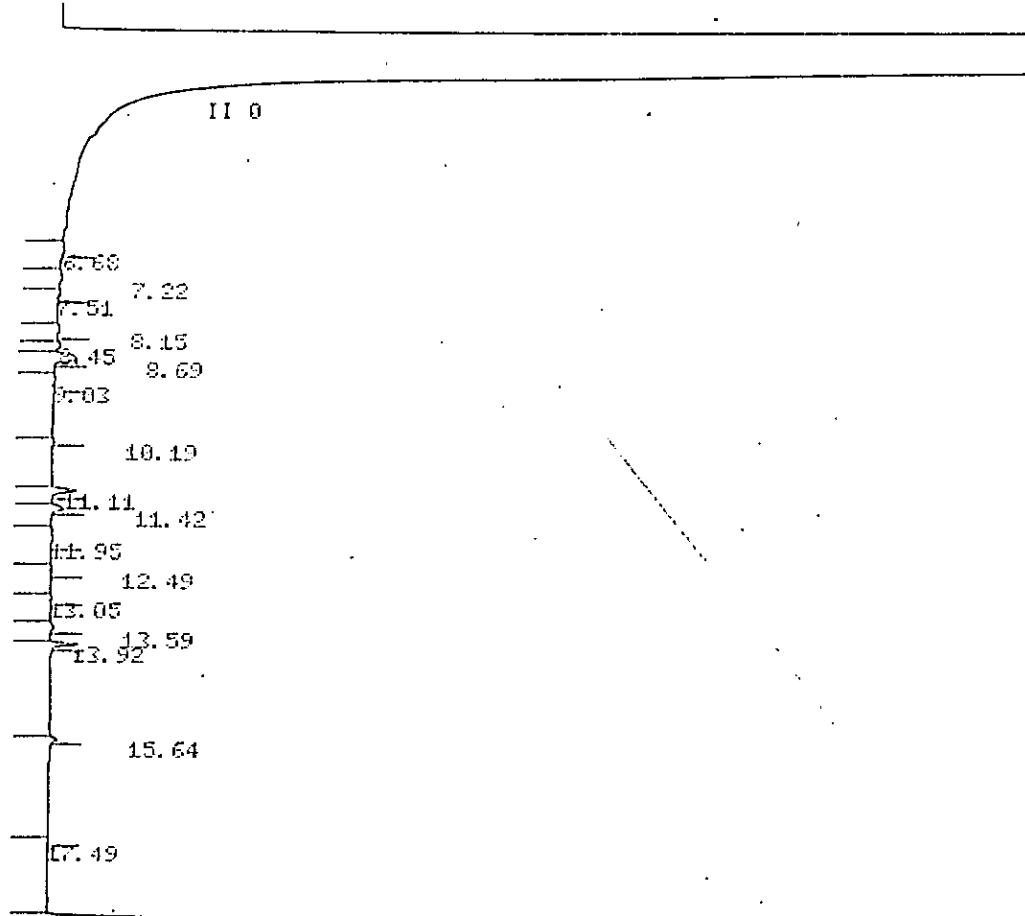
3.2.2 - Cromatograma de E. Citriodora 2ª extracção - C. Normal



000

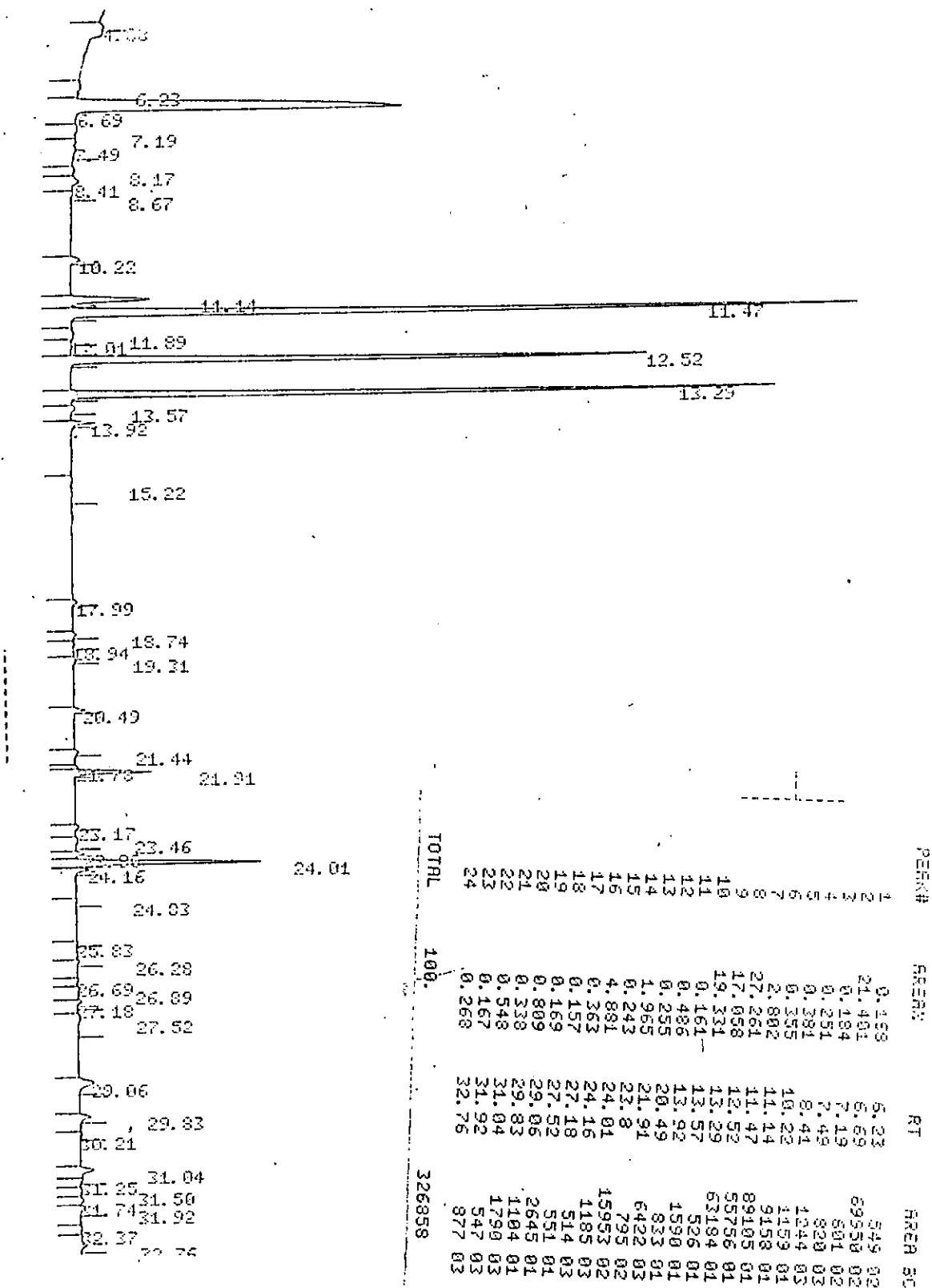
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.295	6.81	972	01
2	0.108	7.29	356	02
3	0.084	7.65	275	03
4	0.216	8.31	711	02
5	0.201	8.57	662	02
6	1.531	8.83	5042	03
7	0.087	9.17	288	01
8	0.147	10.36	483	01
9	0.488	11.27	1606	01
10	0.51	11.62	1679	01
11	0.148	12.07	488	01
12	0.036	12.34	117	01
13	0.083	12.66	274	01
14	0.062	13.22	205	01
15	0.035	13.44	120	01
16	0.144	13.74	473	01
17	0.313	14.09	1029	01
18	0.046	14.25	153	01
19	0.145	15.83	482	01
20	0.031	17.75	102	01
21	81.496	19.35	268326	01
22	0.262	20.72	862	01
23	1.919	21.30	6319	02
24	4.717	21.49	15531	03
25	0.647	21.99	2131	02
26	0.285	22.21	939	03
27	0.315	22.77	1036	01
28	0.043	23.17	141	02
29	0.54	23.36	1777	03
30	0.097	24.24	320	01
31	0.047	24.51	155	01
32	0.047	25.04	155	01
33	4.487	25.60	14772	01
34	0.046	26.36	152	01
35	0.052	27.51	171	01
36	0.048	28.13	158	01
37	0.054	28.45	210	01
38	0.175	36.12	577	01
TOTAL	100.		329249	

3.2.3 - Cromatograma de E. Citriodora - C. Mod.

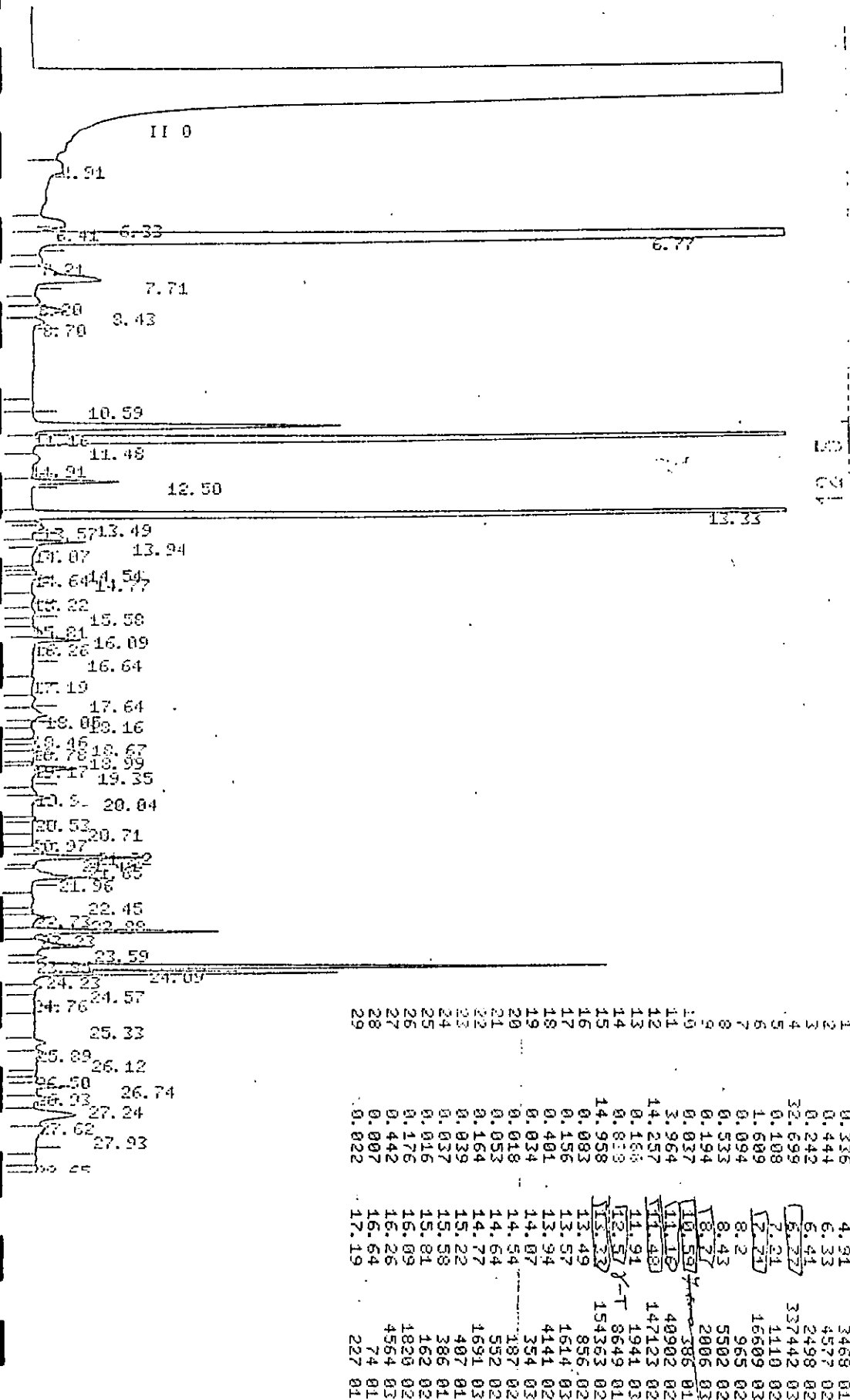


PERK#	AREA%	RT	RUN	RPER BC
1	0.285	6.69	526	01
2	0.306	7.22	565	03
3	0.295	8.45	545	02
4	1.611	8.69	2977	03
5	1.023	11.11	1900	01
6	0.558	11.42	1031	01
7	0.8	13.92	1479	01
8	81.709	19.08	151004	01
9	2.721	21.05	4289	02
10	5.804	21.22	10727	03
11	6.471	21.77	870	01
12	9.404	22.51	746	01
13	8.284	23.13	524	03
14	4.126	25.34	7625	01
TOTAL	100.		134808	

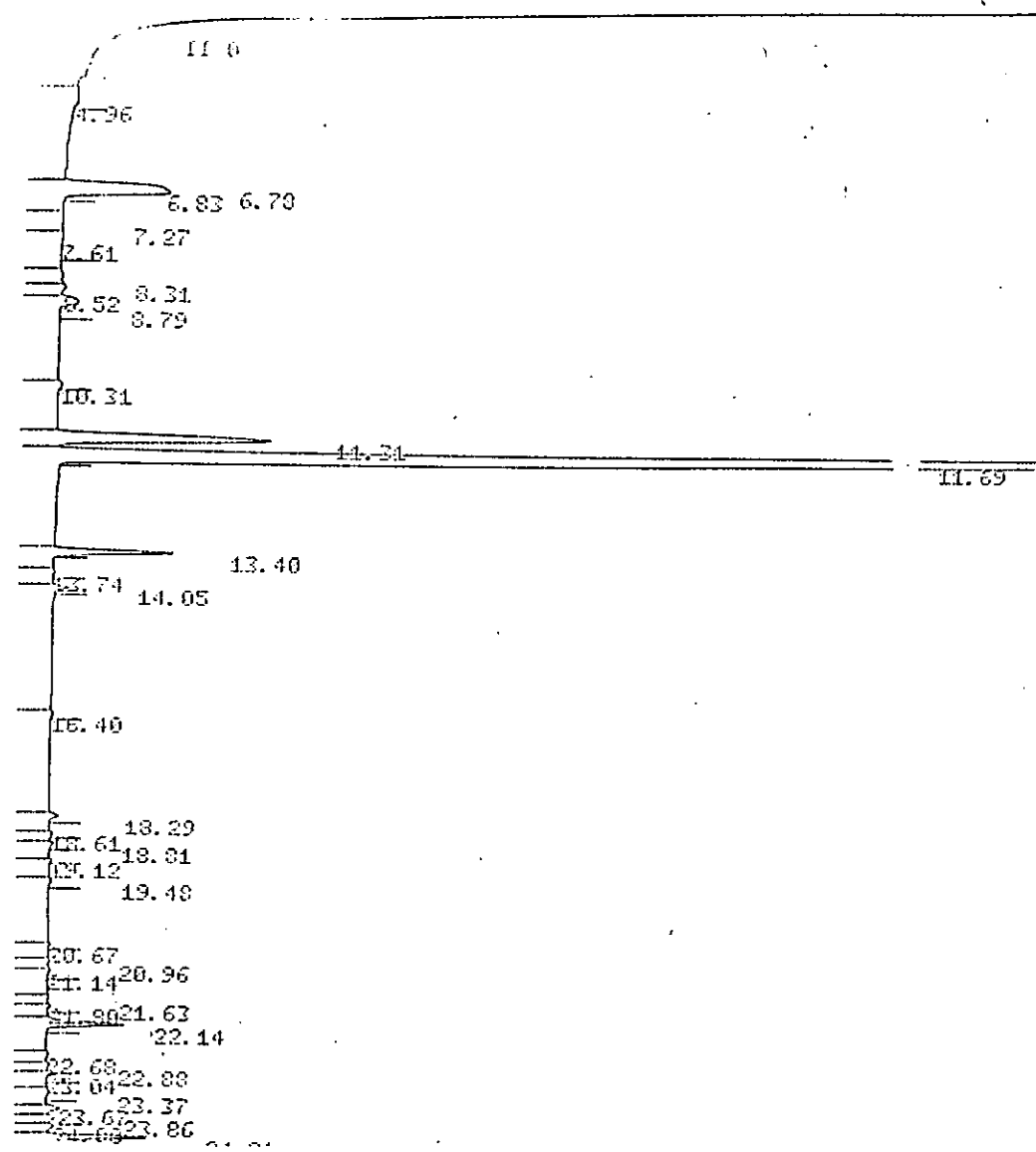
3.2.4 - Cromatograma de E. Saligna de Namaacha 1ª extracção



3.2.5 - Cromatograma de E. Saligna de Namaacha 2ª extracção

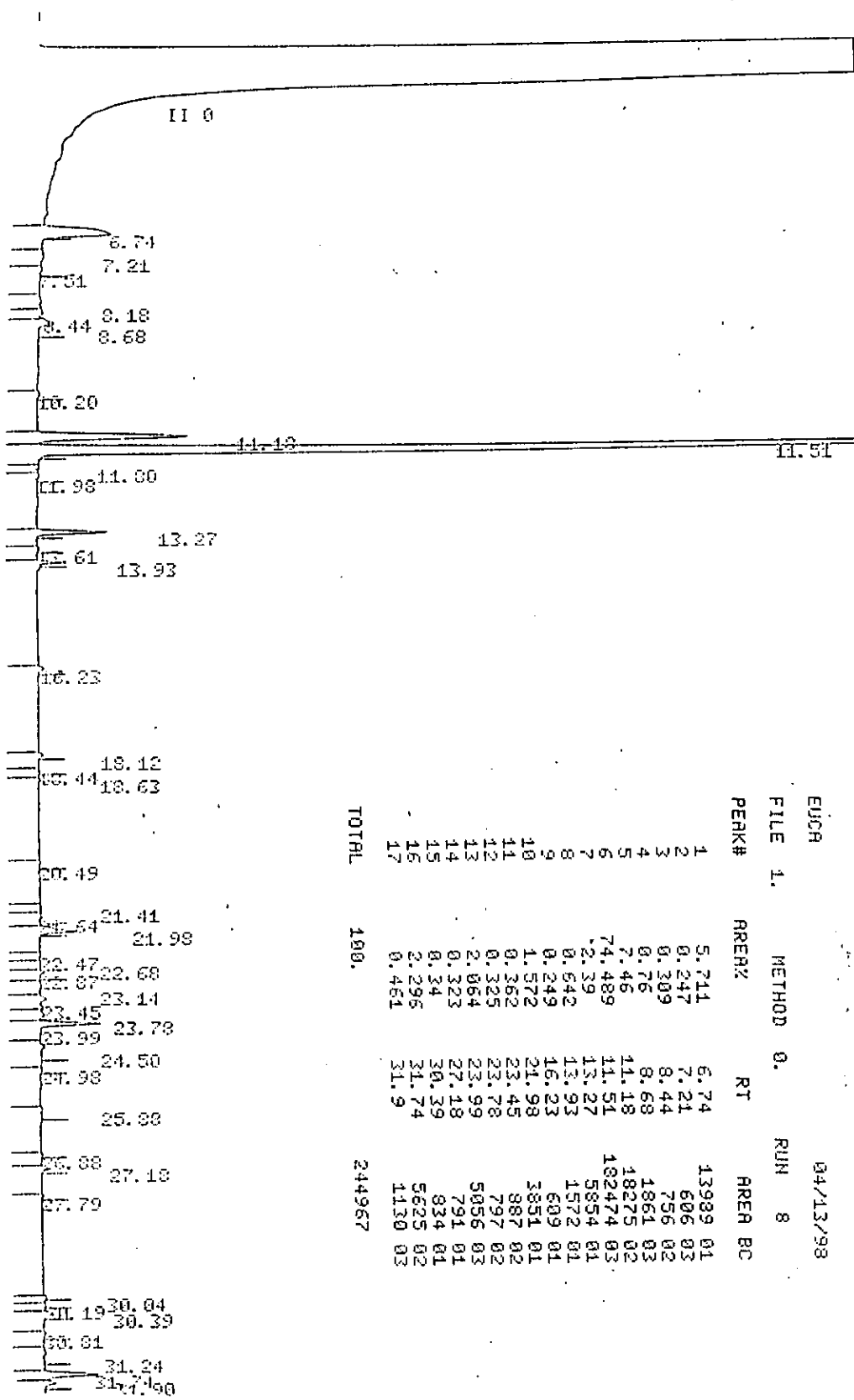


3.2.6 - Cromatograma de E. Tereticornis - C. Normal



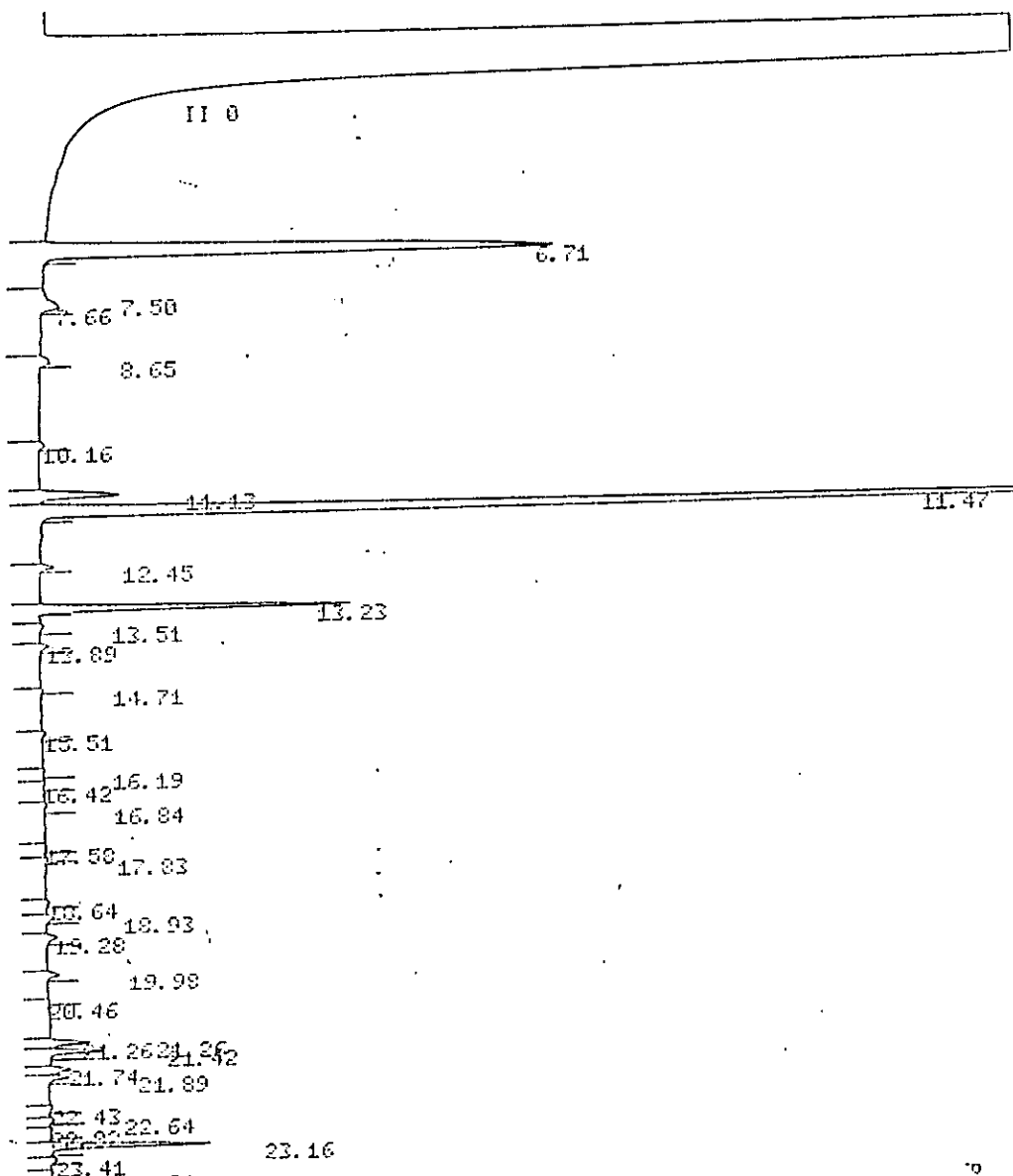
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.251	4.96	952 01
2	2.625	6.70	9966 02
3	2.935	6.83	11149 03
4	0.088	7.27	336 02
5	0.11	7.61	417 03
6	0.089	8.31	338 02
7	0.201	8.52	764 02
8	0.742	8.79	2818 03
9	0.119	10.31	457 01
10	7.027	11.31	26683 02
11	73.006	11.69	277216 03
12	2.25	13.40	8943 01
13	0.035	13.74	133 01
14	0.259	14.05	903 01
15	0.063	15.4	238 01
16	0.171	16.4	651 01
17	0.053	18.29	203 01
18	0.051	18.61	194 01
19	0.037	19.40	141 01
20	0.065	19.48	248 01
21	0.04	20.67	151 01
22	0.028	20.96	107 02
23	0.064	21.14	242 03
24	0.038	21.63	145 02
25	0.069	21.8	263 03
26	1.644	22.14	6243 01
27	0.055	22.68	218 02
28	0.07	22.88	264 02
29	0.151	23.04	725 03
30	0.082	23.37	313 01
31	0.29	23.86	1100 02
32	0.166	24.21	629 02
33	0.157	24.73	598 03
34	1.873	24.73	6959 02
35	0.2	25.11	760 01
36	0.074	25.37	270 01
37	0.045	25.51	141 01
38	0.052	26.3	199 01
39	0.088	27.42	335 01
40	0.34	27.65	1292 01
41	0.048	28.01	147 01
42	0.043	29.07	183 01
43			162 01
44			

3.2.7 - Cromatograma de E. Tereticórnis - C. Mod.



3 61

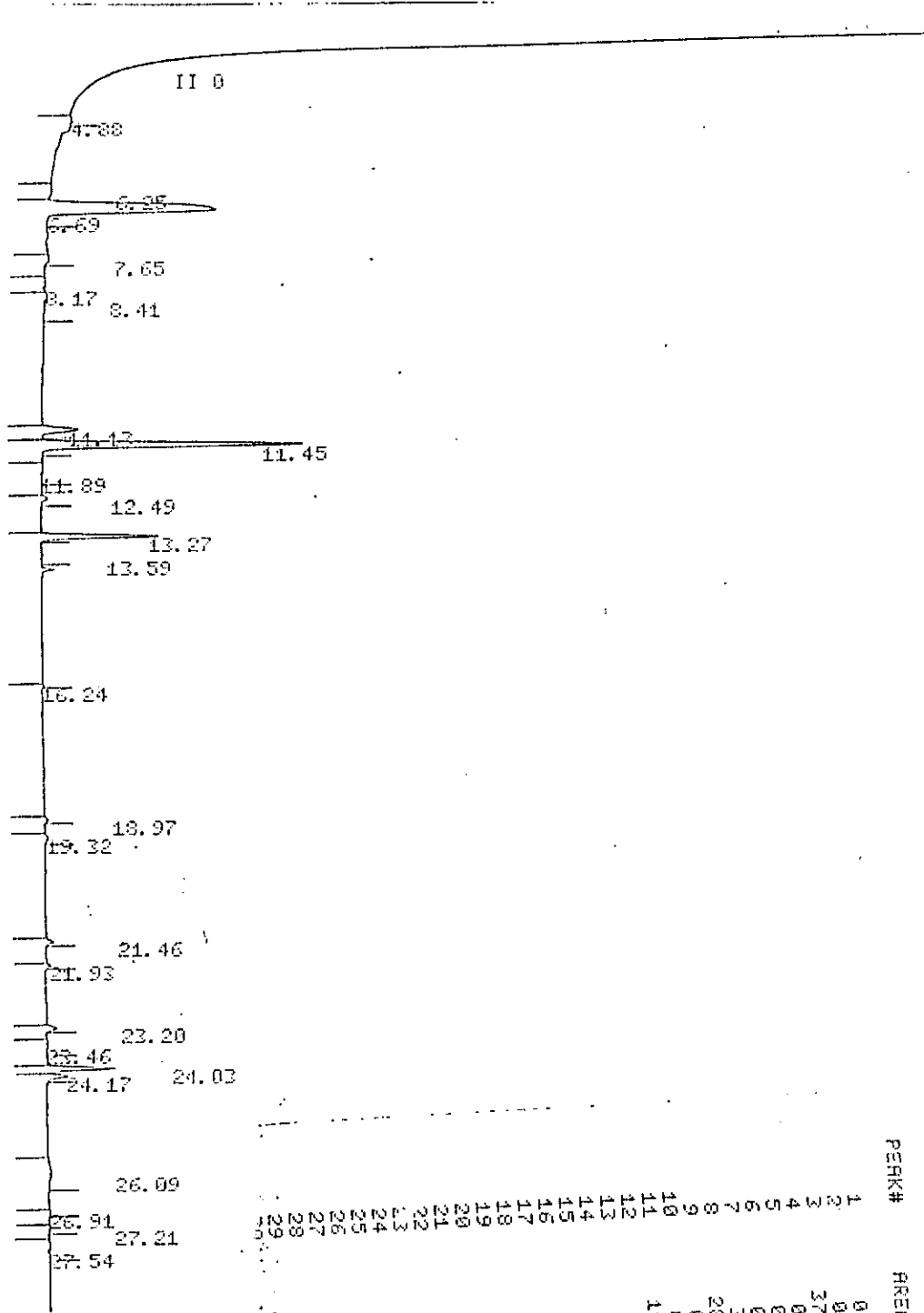
3.2.8 - Cromatograma de E. Paniculata . C. Normal.



0.00

PEAK#	RT	AREA	PERCENT
1	6.71	89319.04	25.118
2	7.5	694.02	0.195
3	7.50	2893.03	0.814
4	8.65	1312.01	0.369
5	10.16	505.01	0.142
6	11.43	8316.01	2.339
7	11.47	170498.01	47.947
8	12.45	969.01	0.273
9	13.23	21888.01	6.155
10	13.51	275.01	0.077
11	13.89	637.01	0.179
12	14.71	152.01	0.043
13	15.51	317.01	0.089
14	16.19	95.01	0.027
15	16.42	85.01	0.024
16	16.84	184.01	0.052
17	17.83	155.01	0.044
18	17.83	112.01	0.031
19	18.64	215.01	0.06
20	18.93	529.01	0.149
21	19.28	926.01	0.26
22	19.93	888.01	0.25
23	20.46	71.01	0.02
24	21.26	1620.02	0.456
25	21.36	1291.02	0.363
26	21.74	3539.03	0.995
27	21.89	1767.02	0.497
28	21.89	1541.03	0.433
29	22.43	255.01	0.049
30	22.64	148.01	0.072
31	22.64	148.01	0.042
32	23.16	11273.01	3.17
33	23.41	455.01	0.128
34	23.41	154.02	0.043
35	23.64	305.02	0.086
36	22.78	11422.02	3.212
37	23.99	6826.03	1.92
38	24.48	119.01	0.033
39	24.63	594.02	0.142
40	25.27	895.03	0.167
41	25.27	895.03	0.005

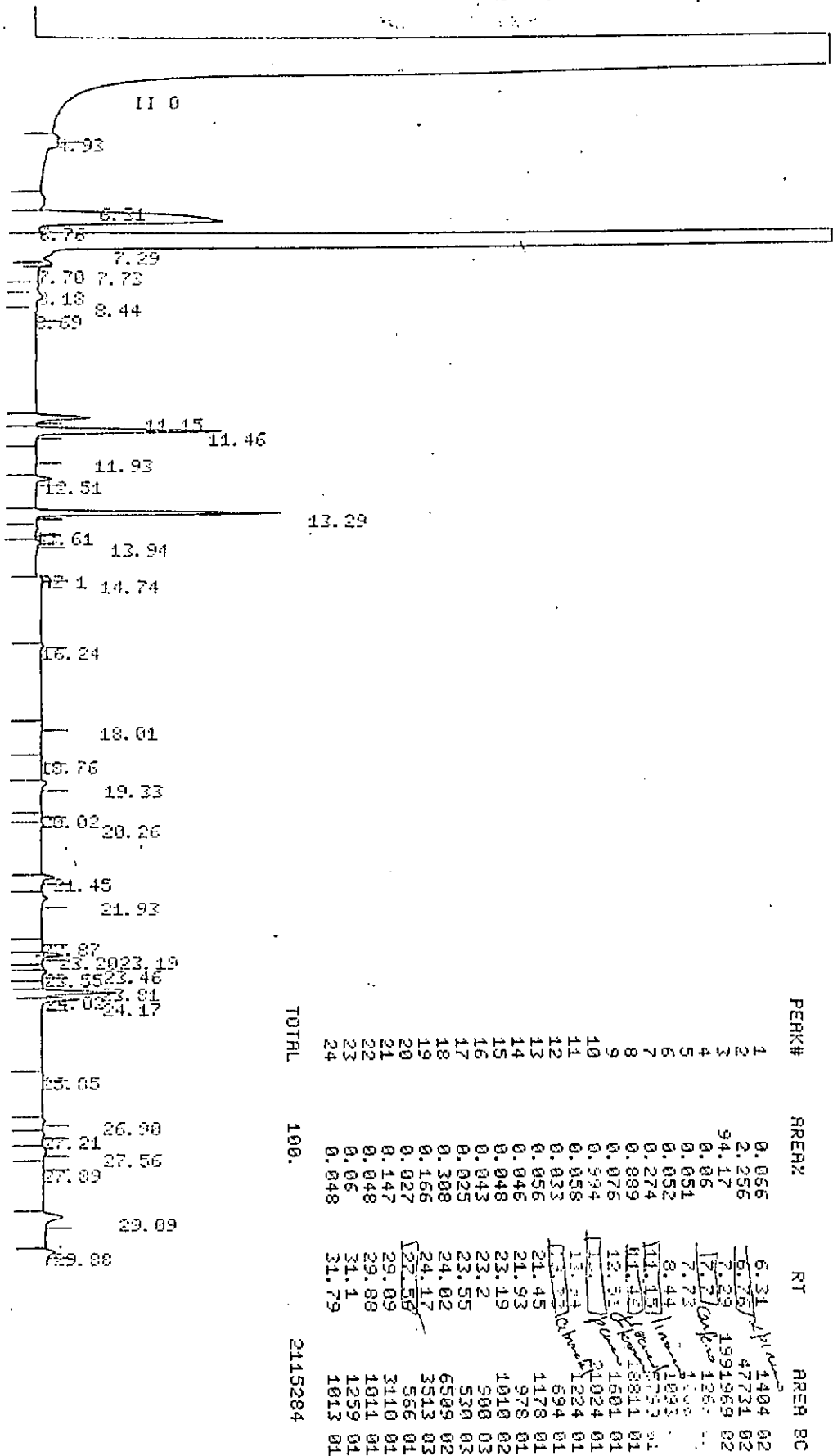
3.2.9 - Cromatograma de E. Grandis - C. Normal



480

PERK#	RT	RRER#	RRER BC
1	0.342	4.88	306 01
2	0.438	6.25	392 02
3	37.925	6.69	33938 03
4	0.569	7.65	509 01
5	0.32	8.17	285 02
6	0.821	8.41	735 03
7	3.998	11.13	3578 01
8	28.108	11.89	25157 01
9	0.353	12.49	316 01
10	0.71	13.27	635 01
11	10.377	13.59	9286 01
12	0.169	16.24	151 01
13	0.111	18.97	99 01
14	0.304	19.32	370 01
15	0.413	21.46	272 01
16	0.586	21.93	524 01
17	0.289	23.20	259 01
18	0.84	23.46	752 01
19	0.277	24.03	248 01
20	5.679	24.17	5082 02
21	1.945	24.46	1714 03
22	1.141	26.09	1021 01
23	0.19	26.91	170 01
24	0.168	27.21	150 01
25	0.275	27.41	248 01
26	0.764	27.54	684 01
27	0.555	29.09	497 01
28	0.545	29.89	488 01
29	0.291	31.11	260 01
30	1.525	33.58	260 01
31	1.525	34.85	1325 01

3.2.10 - Cromatograma de E. Saligna de Marracuene - C. Normal



3.2.11 - Cromatograma de E. Cinerea - C. Normal

Anexo - 4 . Fórmulas Estatísticas

4.1 - Distribuição t (student)

O cálculo é usado para estabelecer os intervalos e limites de confiança dos resultados de uma análise de certa amostra. Os limites dão os valores mínimos e máximos a um nível de confiança $p=0.05$.

$$\mu = m \pm t.s/n^{1/2} \quad (13)$$

m - valor médio

t - constante que se aproxima a 1 quando "n" tende para o infinito.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - m)^2}{n - 1}} \quad (14)$$

n = número de amostras

S = estimativa do desvio padrão

4.2 - Testes de Significância

4.2.1 - Comparação das médias de dois grupos de amostras

Foi usado para verificar se a diferença entre as médias era ou não significativa. Se os desvios padrão dos grupos não diferem significativamente, uma estimativa do desvio padrão pode ser calculada a partir dos desvios padrão S_1 e S_2 pela equação:

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad (15)$$

$$\text{onde } t = \frac{(m_1 - m_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (16)$$

O número de graus de liberdade é... $n_1 + n_2 - 2$ (17)

4.3 - Cálculo de Rf no CCF

$$Rf = \frac{\text{Distância percorrida pela mancha}}{\text{Distância percorrida pela frente do solvente}} \quad (18)$$