UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TÂNIA MARILIA NOVAES DOS SANTOS

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DOS CICLOPENTENICOS PRESENTES NAS AMENDOAS DE *Carpatroche brasiliensis Endl*

JEQUIÉ - BAHIA

DEZEMBRO 2019

TÂNIA MARILIA NOVAES DOS SANTOS

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DOS CICLOPENTENICOS PRESENTES NAS AMENDOAS DO FRUTO DA *CARPATROCHE BRASILIENSIS ENDL*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento

JEQUIÉ - BAHIA

DEZEMBRO 2019

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem
foram conquistadas do que parecia impossível.

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

‘Toda honra e gloria são para ti Jeová’.

Agradeço em primeiro lugar a Jeová Deus, pela dádiva da vida e por me dar força e coragem para seguir sempre em frente.

Aos meus Pais que depositaram em mim toda confiança dando-me sempre incentivos, encorajamento e muito amor. Por vocês estou aqui.

A minha irmã, pela amizade e apoio, você é muito importante para mim.

As minhas Tias Cris e Rita, meus primos em especial Karol e Bruno e ao meu esposo Cristiano e suas filhas Elis e Lara, vocês que são o alicerce da minha construção.

Agradeço a todos os meus amigos (Val, Indy e Ray), em especial Uillian, Joaly e Adonias pela força e ajuda de sempre, a amizade é uma dádiva.

Aos meus colegas de curso e colegas de LPN.

Sou grato aos meus dedicados professores, pelas contribuições valiosas que prestaram no exercício de suas funções. ‘Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina’.

Desejo agradecer especialmente ao meu orientador, Dr. Jeferson Chagas do Nascimento, pela maneira incisiva com que contribuiu em todas as etapas deste trabalho – ensinando, encorajando, incentivando e aconselhando.

Agradeço ao Programa de pós-graduação em Química e CAPES pelo apoio financeiro

Obrigado a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente para minha formação.

RESUMO

A família Flacourtiaceae agrupa em torno de 79 gêneros, abrangendo 880 a 1000 espécies. No Brasil foram identificados cerca de 23 gêneros e mais de 100 espécies, em diferentes ambientes. O presente trabalho teve como principal objetivo extrair o óleo da semente de *Carpotroche brasiliensis*, identificar e purificar os ciclopentênicos para possíveis transformações químicas. Para tanto, foram coletadas os frutos no muninipio de Itajibá- Bahia, nos meses de janeiro e fevereiro de 2017, onde foram submetidos ao processo de higienização e secagem; em seguida os óleos foram extraídos por prensagem a frio utilizando prensa hidráulica 10 toneladas. O teor de óleo foi de 70,05% (m/m) na extração com prensa, e a torta resultante da extração mecânica, foi pesada e submetida ao processo de extração por solvente, após a obteve-se um teor 74% (m/m) de óleo, considerando apenas a massa da torta. O óleo bruto foi submetido à análise por infravermelho onde foi possível verificar a presença de èsteres; em seguida, realizou-se reações de transesterificação para análise cromatográficas, as substâncias presentes na amostra foram identificadas através de CG-EM, sendo estas: Metil éster do ácido Palmítico, Metil éster do ácido esteárico, e uma misturas de Metil éster dos ácidos ciclopentenicos. Na purificação dos ciclopentenicos utilizou-se Cromatografia em Coluna (CC); foram feitas três colunas cromatográficas onde variou apenas as massas empregadas (2,0g, 4,0 e 6,0g). Observou-se que a coluna 2 (4,0 g) alcançou melhores resultados, então as frações coletadas foram analisadas por CCD e agrupadas em 9 (nove) frações e analisadas no Infravermelho (IV). A fração 4 (quatro) da coluna dois (C2FPC) com rendimento de 49,81% foi submetida a análise por CG-DIC. Posteriormente essa fração foi submetida a um novo processo de purificação em coluna cromatográfica (CC). Depois de agrupadas as frações, a subtração obtida do agrupamento 5-10 (SCFPE) da fração 4 (quatro) da coluna dois (C2FPC), foi submetida a análise por CG-FID onde pôde-se identificar por comparação dos cromatogramas a purificação quase que total do ciclopentenico (Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico presentes na amostra. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi alcançada com satisfação, pois através dos métodos utilizados extraiu-se o óleo da semente presente na *Carpotroche brasiliensis* e purificou os ciclopentênicos para possíveis transformações químicas.

ABSTRACT

The Flacourtiaceae family groups approximately 79 genera, which covers 880 to 1000 species. In Brazil, about 23 genera and over 100 species were identified in different environments. The main objective of the present work was to extract the oil from Carpotroche Brasiliensis seed, identify and purify cyclopentens for possible chemical transformations. The fruits were collected in the municipality of Itajibá – Bahia in January and February 2017, where the cleaning and drying process were performed. Then, the oils were extracted by cold pressure using 10 tons hydraulic pressure. The oil content was 70.05% (m / m), and the cake was submitted to the solvent extraction process, allowing extraction to 74% of oil. The crude oil was subjected to infrared analysis where it was possible to verify the presence of esters; then transesterification reactions were performed for chromatographic analysis. Substances present in the sample were identified by the GC-MS as follows: Palmitic acid methyl ester, stearic acid methyl ester, and a mixture of cyclopentene methyl ester. In order to purify cyclopentenes a Column Chromatography (CC) was used; Three chromatographic columns were made by varying only the employed masses (2.0g, 4.0 and 6.0g). It was observed that column 2 (4.0 g) achieved better results, so collected fractions were analyzed by CCD and grouped in 9 (nine) fractions and analyzed by Infrared (IR). A 49.81% C2FPC fraction was subjected to GC-DIC analysis. Afterwards, this fraction was subjected to a new chromatographic column (CC) for purification process. After grouping the fractions, a subtraction of SCFPE was subjected to GC-FID analysis, where it was possible to identify by comparison of chromatograms an almost total purification of cyclopentenic (cyclopent-2-enyl) tridecanoic acid methyl ester present. Thus, the objective of this research was achieved with satisfaction, after the use of extraction methods for oil seed present in Carpotroche Brasiliensis and purification of cyclopentens for possible chemical transformations.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Liquida de alta eficiência
TLC	Cromatografia em camada Fina
HPLC	Cromatografia Liquida de alta eficiência
	(do inglês *liquid chromatography*)
IV	Infravermelho
CC	Coluna Cromatográfica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplado ao espectro de massa
CG-DIC	Cromatografia Gasosa com detector por ionização de chama
UESB	Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
LPN	Laboratório de Produtos Naturais
OV-5	5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano
C1	Coluna um
C2	Coluna dois
C3	Coluna três
C2FPB	Coluna dois fruto da Paca – fração 3
C2FPC	Coluna dois Fruto da Paca – fração 4
SCFPE	Subfração coluna Fruto da paca – fração 5 - 10
Hex/AcOEt	Hexano/Acetato de Etila
TR	Tempo de Retenção

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Árvore de *C. brasiliensis*.

Figura 2: Formato da casca do fruto maduro

Figura 3: Fruto aberto demonstrando a polpa e sementes

Figura 4: Árvore com fruto da *Carpotroche brasiliensis*

Figura 5: Exsicata da *Carpotroche brasiliensis*

Figura 6: (A) Fruto; (B) Polpa; (C) Semente e (D) Amêndoas

Figura 7: Hidráulica mecânica 10 toneladas MarconMPH10- LPN

Figura 8: Óleo extraído da C*. Brasiliensis*

Figura 9: Espectro obtido do infravermelho utilizando o éster metílico da *Carpotroche brasiliensis*

Figura 10: Cromatograma padrão de ésteres metílicos (c4 – c24).

Figura 11: Cromatograma CG-EM do éster metílico da *C. Brasiliensis*.

Figura 12: Espectro de RMN ^{13}H do óleo da *Carpatroche Brasiliensis* [300 MHz, □ (ppm)]

Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C do óleo da *Carpatroche Brasiliensis* [300 MHz, □ (ppm)]

Figura 14: Espectros de Infravermelho (IV) das frações obtidas na Coluna Cromatográfica C2FP. A-C2FP(1-2), B- C2FP(3), C-C2FP(4), D-C2FP (5), E-C2FP6), F- C2FP(7-10), G- C2FP(11-14), H- C2FPG(15-19), I-C2FP(20)

Figura 15: Espectros de Infravermelho (IV) das frações agrupadas obtidas na Coluna Cromatográfica C1FP.

Figura 16: Espectros de Infravermelho (IV) das frações agrupadas obtidas na Coluna Cromatográfica C3FP

Figura 17: Cromatograma obtido a partir do óleo bruto da *C.Brasiliensis* por CG-FID

Figura 18: Cromatograma obtido a partir do óleo bruto da *C.Brasiliensis* por CG-EM.

Figura 19: Cromatograma obtido da fração C2FPC por CG-DIC.

Figura 20: Cromatograma obtido da subfração SCFPE por CG-DIC.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores obtidos no processo de secagem.

Tabela 2 – Resultados para a extração mecânica da amedoa da *C. Brasiliensis*

Tabela 3- Matérias-primas para extração de óleo por prensagem.

Tabela 4 - Rendimento da extração com solvente

Tabela 5- Valores de rendimento obtidos na transesterificação

Tabela 6 - Dados obtidos do CG-EM utilizando o éster metílico.

Tabela 7 - Frações agrupadas da coluna C1FP (2,0) obtidas por CC do óleo bruto da *C. Brasiliensis*.

Tabela 8- Frações agrupadas da coluna C2FP (4,0) obtidas por CC do óleo bruto *C.Brasiliensis*

Tabela 9-Frações agrupadas da coluna C3FP (6,0g) obtidas porCC do óleo bruto *C.Brasiliensis*

Tabela 10-Estado físico das frações

Tabela 17 -Dados obtidos do CG-EM utilizando o éster metílico.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 3
Familia Flacourtiacea 3
Espécie Carpatroche Brasileiensis *3*
Óleo da Chalmugra 5
Purificação do óleo da Chalmugra 6
3 OBJETIVOS 8
Gerais 8
Específicos 8
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL 9
Coleta de matéria-prima 9
Preparo da Amostra 10
Extração por prensagem 12
Extração com solvente 13
Determinação do teor de óleo da estração mecânica 14
Análise por Espectrometria de Infravermelho (IV) 15
Reação de Transesterificação 15
Rendimento dos ésteres metílicos 16
Análise por CG-EM 16
Análise por Espectrometria de RMN 16
Análise por CG-DIC 16
Cromatografia em Coluna 17
Purificação dos Ciclopentenicos 17
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 18
Preparo da Amostra 18
Extração por prensagem 19

Extração com Solvente 21
Análise por Espectrometria de Infravermelho 22
Reação de transesterificação 22
Análise por CG-EM 23
Análise por Espectrometria de RMN 25
Purificação dos Ciclopentenicos 26
7 CONCLUSÕES 39
PERSPECTIVAS FUTURAS 40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

INTRODUÇÃO

A relação homem x natureza vem desde a antiguidade quando era utilizado para fins práticos como alimentação, moradia, defesa, práticas religiosas, meios de transporte, fertilizantes, aromas, fragrâncias e saúde. Segundo relatos da história do uso de plantas medicinais, populações da China, Egito, Ásia e Roma com base em seus conhecimentos realizaram a classificação de diversas espécies vegetais com a respectiva indicação terapêutica (LIMA, 2001). Assim, as possibilidades de uso de diferentes plantas, aumentou ainda mais o conhecimento de cientistas botânicos europeus.

O Brasil é considerado mega diverso, porque possui um patrimônio genético incomparável nos seus mais ricos ecossistemas, estando entre os países que possui maior diversidade mundial, distribuídos em grandes biomas, sendo constituído por aproximadamente 50 mil espécies de plantas superiores, encontrando-se na Amazônia com 25-30 mil espécies (IUCN, 1986), na Mata Atlântica com 16 mil (MENDONÇA, 1998), e as outras espécies distribuídas na Caatinga e na Floresta Subtropical (SKORUPA, 2002).

O desejo pelas riquezas da flora brasileira surgiu desde o século XVI, quando os botânicos europeus visitaram o Brasil do século XVII até o final do século XIX para estudar as paisagens e a flora. Assim, quase todas as coleções feitas foram depositadas em herbários europeus (BEDIAGA, 2007). Entretanto, apesar do grande número estimado de espécies vegetais existentes, apenas uma pequena parcela tem sido pesquisada cientificamente.

A família Flacourtiaceae foi organizada em 7 gêneros sendo elas: Oncobeae, Abatieae, Homalieae, Prockieae, Flacourtieae, Lacistemeae e Casearieae, composto por 880 espécies estando distribuídas em 86 gêneros. Dentre os gêneros as Casearia, Homalium e Xylosma são as mais abundantes pois, juntos, correspondem a quase metade do número de espécies da família . Pode-se encontrar essa família na Américas, África, Ásia, Malásia, Austrália e nas ilhas do Pacífico (KLEIN E SLEUMER, 1984).

No Brasil, são citados 19 gêneros e, quase 92 espécies. Em algumas regiões florestais da Zona da Mata Mineira e em um campo de altitude no Parque Estadual

da Serra do Brigadeiro foram encontradas espécies pertencentes aos gêneros Abatia, Banara, Carpotroche, Casearia, Prockia e Xylosma (BARROSO et al 2002).

O óleo extraído das sementes de *Carpatroche Brasiliensis* é conhecido como óleo de chaulmugra (ou chaulmoogra), cujos constituintes majoritários são os ácidos graxos ciclopentênicos: chaulmúgrico (**1**), hidnocárpico (**2**) e górlico (**3**). Estes óleos, durante muito tempo até o aparecimento das sulfas em 1940, foram o principal remédio para o tratamento da lepra. No Brasil, a principal espécie fornecedora do óleo de chaulmugra, aqui amplamente conhecido como óleo de sapucainha, é a *Carpotroche brasiliensis* Endl. (BITTENCOURT, 2017)

REFERENCIAL TEÓRICO

Família Flacourtiaceae

A família Flacourtiaceae, é caracterizada por plantas lenhosas, de distribuição pantropical e de difícil diagnose no campo devido a sua morfologia floral extremamente heterogênea (THADEO, 2007).

A família Flacourtiaceae agrupaem torno de 79 gêneros, abrangendo 880 a 1000 espécies. No Brasil foram identificados cerca de 23 gêneros e mais de 100 espécies, em diferentes ambientes. Onde a morfologia floral apresentou-se diferente para cada uma das espécies. (LIMA *et al.* 2004; BITTENCOURT, 2017).

Devido à grande variação da flora, não existe consenso quanto à organização taxonômica da família Flacourtiaceae , sendo que a situação taxonômica destas são confusas principalmente porque seus caracteres unificadores (A posição dos estômatos na folha, o tipo de mesofilo, o número de camadas tanto do parênquima paliçádico quanto lacunoso, a presença de hipoderme, entre outros que são considerados caracteres úteis na distinção das espécies) são compartilhados por muitas outras famílias (THADEO, 2007)

Espécie *Carpotroche brasiliensis*

A *Carpotroche brasiliensis* é uma planta pertencente à família Flacourtiaceae, possuindo porte médio a grande de 10 a 20 metros de altura, com tronco reto, folha simples com nervura marcada, oblonga ou obtusa, membranosa ou subcoriácea glabrescente **(Figura 1)**, com produção frutos nutritivos com polpas carnudas e ricas em substancias medicinais, onde esses possuem cascas rígidas com uma protuberância, que lembra a “babados” de saias, dando origem assim a um de seus nomes mais populares “fruta de babado”**(Figura 2 e 3).** Árvore da família Achariaceae, originada da Mata Atlântica, dos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro, Brasil, sendo populamente conhecida como fruto-de-paca, fruto-de-macaco, fruto-de-cotia ou sapucainha (OLIVEIRA, 2006; OLIVEIRA *et al.* 2009; BITTENCOURT, 2017).

Figura 1. Árvore de *C. brasiliensis.*

Fonte: Bitencourt, 2017

Suas folhas são pecioladas e agudas, levemente atenuadas possuindo comprimento até 18 cm. Flores polígamas, róseas, grandes, sendo suas sépalas mais compridas do que as pétalas.

Figura 2. Formato da casca do fruto maduro

Fonte: Bitencourt, 2017

Óleo da chaulmugra

A primeira utilização das flacurtiáceas oleaginosas foi para o tratamento de Lepra, onde o rei de Rama, da Birmânia, foi para o interior de uma floresta para esconder a doença. No local, aquele se alimentou das folhas e frutos da árvore e curou a si próprio. Daí, surgiram alguns relatos da utilização do óleo de chaulmugra para o tratamento desta doença. Onde, em 1900 iniciou a investigação das suas propriedades terapêuticas e da sua composição química (OLIVEIRA, 2006; OLIVEIRA, 2009).

Segundo o que é relatado na literatura, todos os ácidos obtidos eram misturas (ácidos carpotróchico, carpotrochínico e carpotrolênico). Em seu fruto possuem sementes que é extraído um óleo **(FIGURA 3),** conhecido como capotroche ou supucainha, cujos constituintes majoritários são os ácidos graxos ciclopentênicos: chaulmúgrico, hidnocárpico e górlico (OLIVEIRA, 2006; OLIVEIRA *et al.* 2009).

O teor destes ácidos no óleo de *C. brasiliensis*, que foi descrito como tendo 24,4% de ácido chaulmúgrico, 45,5% de ácido hidnocárpico e 15,4% de ácido górlico, acompanhados de 6,6% de ácido palmítico, 6,3% de ácido oléico e de uma série homóloga de ácidos ciclopentênicos de cadeia carbônica menor. Segundo a

literatura, esse óleo possui função, insceticida, depilatória, parasiticida, onde a uso para tratamento de caspas, piolhos, sendo também durante muito tempo até o aparecimento das sulfas em 1940, foram o principal remédio para o tratamento da lepra (LIMA et al. 2005)

Figura 3. Fruto aberto demonstrando a polpa e sementes

Fonte: Bitencourt, 2017

Purificação do Óleo da chaulmugra

A extração química objetiva retirar da planta as substâncias desejadas. Existem vários tipos de extração, que variam de acordo com o caráter da substância a ser extraída e fatores que interferem nesta operação, como características do material vegetal (semelhante a do solvente), o seu grau de divisão (como o solvente deve penetrar no material para possibilitar a difusão, este deve ser dividido de acordo com sua rigidez), o meio extrator (escolher o solvente mais afim) e a metodologia utilizada (forma de extração mais indicada para cada caso) (DIAS, 1999; NOGUEIRA *et al.* 2011; MÜHLEN & LANÇAS, 2012; VIVEIROS, 2018).

Após a extração de compostos de amostras naturais, é necessario realizar uma purificação deste, onde das técnicas que são utilizadas para separar misturas estão a

filtração, destilação simples, destilação fracionada, recristalização, funil de separação, cromatografia em coluna, cromatografia em camada delgada, dentre outras. Se houver dificuldade na separação através das técnicas citadas anteriormente pode-se lançar mão da técnica de cromatografia (MÜHLEN & LANÇAS, 2012; VIVEIROS, 2018; ARAÚJO, 2018)

A cromatografia é o conjunto de técnicas nas quais componentes de uma mistura são separados com base na distribuição diferenciada destes entre uma fase móvel e uma fase estacionária. Na cromatografia simples são três os tipos: a cromatografia gasosa (CG), a cromatografia líquida e a cromatografia supercrítica (CSC). A cromatografia líquida apresenta uma importante subdivisão: a cromatografia líquida clássica (CLC), na qual a fase móvel é arrastada através da coluna apenas pela força da gravidade, e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), na qual se utilizam fases estacionárias de partículas menores, sendo necessário o uso de uma bomba de alta pressão para a eluição da fase móvel (DEGANI, 1998; GOULART, 2012; MÜHLEN & LANÇAS, 2012).

A cromatografia de coluna envolve a separação de compostos pelo mesmo mecanismo como outras técnicas cromatográficas, ou seja, diferenças de particionamento entre as fases móveis e estacionárias . A fase estacionária serve como um adsorvente através do qual a fase móvel é passado. Muitos compostos com diferentes grupos funcionais podem ser utilizados como fase estacionária e vários tipos de interacções podem auxiliar no desenvolvimento da separação desejada (isto é, ligação de hidrogénio, dipoledipole, interacções, interacções electrostáticas, forças de Van der Waals, de exclusão por tamanho, afinidade, etc). As principais vantagens da cromatografia de coluna são a sua capacidade para trabalhar com maiores quantidades de material (em comparação com GC, TLC e HPLC) e a capacidade de mudar o solvente de eluio ao longo do curso da separação. Isto permite que se retire um componente de um produto desejado, enquanto permanece essencialmente imóvel. Uma mudança na fase móvel move-se o produto desejado através da coluna, o que pode incluir mudanças da polaridade do solvente, mudanças de pH, ou mudanças na força iónica (DEGANI, 1988; VIVEIROS, 2018; ARAÚJO, 2018).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O referido trabalho tem como objetivo extrair o óleo da semente presente na *Carpotroche brasiliensis* e purificar os ciclopentênicos para possíveis transformações químicas.

Objetivos específicos

- Extrair o óleo da semente do fruto *carpotroche brasiliensis* utilizando prensagem hidráulica;
- Identificar os constituintes químicos do óleo
- Contribuir para o conhecimento químico e potencial biológico das espécies da família Flacurtiáceas, presentes no Estado da Bahia;
- Isolar os ciclopetênicos da espécie *carpotroche brasiliensis*
- Utilizar técnicas cromatográficas e espectroscópicas de análise: IV, CC, CCD, CG-EM, CG-FID para identificar os compostos químicos presente na *C. Brasiliensis*

PARTE EXPERIMENTAL

COLETA DA MATÉRIA-PRIMA

Os frutos foram coletados no período entre fevereiro de 2018, no municipio de Itagibá – Ba (Latitude: 14° 16' 57'' Sul, Longitude: 39° 50' 46'' Oeste) (Figura 4). As amostras foram armazenadas em local com temperatura adequada, para que suas características físico- químicas fossem preservadas.

Figura 4 - Árvore com fruto da *Carpotroche brasiliensis*

Fonte: Própria

A espécie *Carpotroche Brasiliensis* foi identificada pela Profª. Drª.Guadalupe, uma exsicata (codigo HUESB9651) encontra-se depositada no Herbário da UESB.

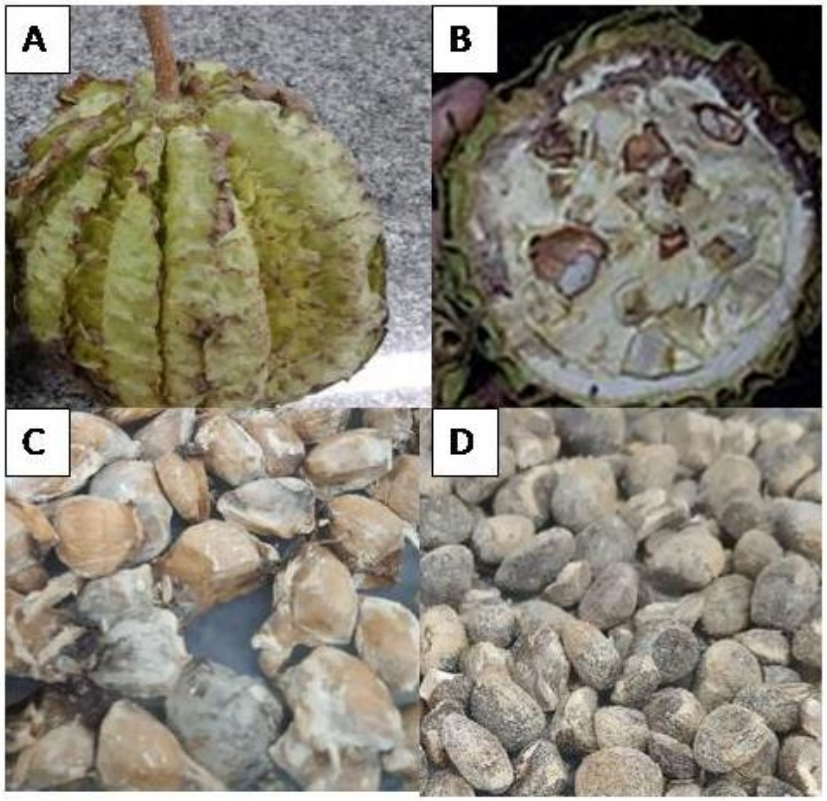
Figura 5 – Exsicata da *Carpotroche brasiliensis*

Fonte: Própria

PREPARO DA AMOSTRA

A remoção da casca, (Figura 6), foi promovida a partir da quebra com um martelo. Após, obteve-se o endocarpo do fruto, estrutura rígida responsável por proteger a amêndoa. A liberação da amêndoa do endocarpo foi realizada a partir de uma fragmentação, com o auxílio de uma martelo, logo em seguida, a amêndoa foi estocada e posteriormente encaminhada para secagem em estufa a temperatura controlada de 105ºC, de forma a não alterar as propriedades do material, até permanecer com massa constante e então finalmente direcionada para a extração de óleo.

Figura 6– (A) Fruto; (B) Polpa; (C) Semente e (D) Amêndoas



Fonte: Própria

Secagem

Os frutos coletados foram submetidos a uma secagem natural, onde consistiu em expor a matéria-prima por algum tempo à radiação solar. Posteriormente retirou-se as sementes do fruto seco, e a casca da semente então foram colocados em uma bandeja por aproximadamente 24 horas. Em seguida foi levada para uma estufa a 105 ºC com circulação de ar por aproximadamente 24 horas.

Teor de Umidade

As determinações das umidades da sementes da C. Brasiliensis foram realizadas segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (ADOLFO LUTZ, 2008), à temperatura de 105 °C por 24 horas em estufa.

Os recipientes contendo as amostras convenientemente identificadas, foram pesados em balança analítica. As amostras foram mantidas na estufa pelo tempo determinado e após a secagem, os recipientes foram pesados novamente.

A porcentagem de umidade, foi calculada na base do peso úmido, aplicando-se a Equação 1

$$U = \frac{(Pi - Pf) \times 100}{Pi - t} \qquad (1)$$

Onde: *U* é a porcentagem de umidade;

Pi é o peso inicial, peso do recipiente mais o peso da semente úmida;

Pf é o peso final, peso do recipiente mais o peso da semente seca;

t é a tara, peso do recipiente utilizado.

EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM

Através do método de extração mecânica por prensagem hidráulica as sementes desidratadas foram pesadas e colocada em um cilindro de aço inox e levado a prensa sob uma pressão de 10 toneladas. O óleo bruto retirado foi pesado e armazenado em béquer devidamente lacrado. A torta resultante da extração foi pesada e armazenada em temperatura ambiente. Utilizou-se uma prensa Hidráulica mecânica MarconMPH10 – Laboratório de Produtos Naturais.

Figura 7- Hidráulica mecânica 10 toneladas MarconMPH10- LPN

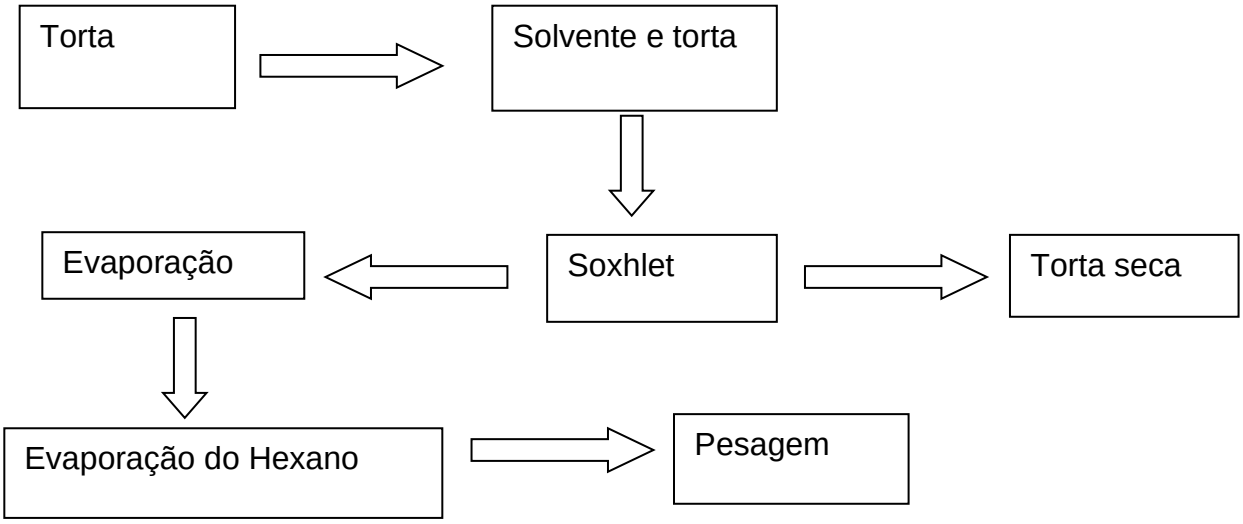
Fonte: Própria

A prensa descontínua, chamada prensa hidráulica, é formada por um cesto de compressão contendo aberturas definidas de acordo com a semente a ser processada. Dentro deste compartimento foi colocado a matéria prima a ser prensado. O sistema de compressão é formado por um pistão acionado por unidade hidráulica. A prensa utilizada é descontinua onde foi fornecida unidade hidráulica manual.

EXTRAÇÃO COM SOLVENTE

Extração de óleo pelo método de Soxhlet:

O experimento foi realizado com o equipamento soxhlet utilizando hexano como solvente. O fluxograma da sequência utilizada para a extração por soxhle apresenta-se abaixo



Iniciou-se colocando a torta seca (torta), acondicionada em cartucho de papel, onde este tem a finalidade de remover a umidade residual da biomassa. Foram feitos três cartuchos, esses cartucho carregado da amostra foram inseridos dentro do Soxhlet, individualmente. Foram colocados 70 mL de hexano, foi aquecido num balão até aproximadamente 70°C. Esse procedimento foi realizado em um tempo de 6 horas, após o balão com o solvente e o conteúdo solúvel, foi levado para um

evaporador rotativo, a fim de evaporar todo o solvente. Após o término da evaporação do solvente o balão com o óleo foi levando para uma estufa a 100ºC por 24 horas para remover qualquer solvente residual e após essa etapa realizou-se a pesagem do óleo para determinar o rendimento.

Determinação do teor de óleo da extração mecânica

Os cálculos foram realizados seguindo a metodologia utilizada por Andrade (2014), adaptada. Para a determinação do teor de óleo

$$Teor\ de\ óleo = \frac{Móleo}{Mamostra} \times 100 \qquad \text{Equação (2)}$$

Onde: M*amostra* = massa de amostra inicial e M*óleo* massa de óleo extraída.

Como existiram perdas, o teor de óleo real é calculado através da Equação 3.

$$Teor\ de\ óleo\ real = \frac{Mamostra - Mtorta}{Mamostra} \times 100 \qquad (3)$$

Onde: M*amostra* = massa de amostra inicial e M*torta* = massa da torta extraída.

As perdas foram calculadas através da diferença entre o teor de óleo real e o teor de óleo, conforme a Equação 4.

$$P = Teor\ de\ óleo\ real - Teor\ de\ óleo \qquad (4)$$

O rendimento da extração mecânica foi calculado com relação ao teor de óleo total, encontrado através da extração por soxhlet, e é dada pela Equação 5.

$$R = \frac{Teor\ de\ óleo}{Teor\ de\ óleo\ total} \times 100 \qquad (5)$$

A massa de óleo recolhida durante todo o processo de extração via prensa hidráulica foi anotada sendo somadas a essa as perdas de óleo para o equipamento que foi contabilizada de acordo com a Equação 3.

ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO

As amostras foram analisados por espectroscopia de absorção no infravermelho em equipamento PerkinElmer Spectrum Two FT-IK. O espectro de transmitância foi registrado entre 4000 e 450 cm-1 a partir de um filme do composto depositado no cristal.

REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Em um tubo de ensaio foram adicionados aproximadamente 50 mg do óleo bruto degomado, 1,0 mL de hexano e agitou até total dissolução. Em seguida, foi adicionada 5,0 mL solução de metóxido de sódio 0,5 $mol.L^{-1}$ recentemente preparada, e a mistura reacional permaneceu 10 min a 50°C sob agitação. Após o aquecimento adicionou-se 125 µL de ácido acético glacial, 3,0 mL de água, em seguida, realizou extração dos ésteres metílicos com 2 porções de 10,0 mL de hexano. A água, quando presente na fase orgânica, foi retirada utilizando sulfato de sódio anidro, logo depois foi concentrado em um rotaevaporador. A reação foi realizada em triplicata com cada uma das duas amostras.

RENDIMENTO DOS ESTÉRES METÍLICOS

O produto final da reação foi pesado e foram realizados cálculos para determinar o rendimento em %(m/m). Os dados foram colocados em tabelas e comparados entre si e com valores encontrados na literatura.

ANÁLISE POR CG-EM

As análises foram realizadas em um equipamento GC-MS QP2010 versão 2.6 Shimadzu, operando com coluna de **OV-5** (5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano) de 30m x 0,25mm s 0,25 µF e gás de arraste He. O volume de injeção foi 1 µL. As temperaturas utilizadas foram 290 °C, para o injetor, 290 °C, para a interface e, 100 °C inicial (durante 1 min), para a coluna, sendo esta elevada 5 °C/min, até 285 °C (permanecendo nesta por 20min). Os constituintes foram identificados por comparação dos seus espectros de massas com aqueles da biblioteca do equipamento, e dos seus tempos de retenção com o padrão FAME de ésteres metílicos C4 à C24.

ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE RMN

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C a MHz e 75 MHz foram obtidos na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em um aparelho Varian Mercury 300.

ANÁLISE POR CG-DIC

Para a determinação da pureza, foi utilizado um cromatógrafo gasoso GC Marca Agilent Technologier equipado com detector por ionização em chama (FID), injetor automático 7890 B e coluna HP- 5ms (30 m x 250 µm x 0,25 µm). Inicialmente, o forno foi mantido por 1 min a 100 °C. A seguir, a temperatura foi aumentada 5 °C por min até 285ºC por 30 min, totalizando 68 min. Um volume de 1,0 µL foi injetado automaticamente no modo split (20:1). O gás de arraste utilizado foi He com vazão de 0,9 mL min-1, split 5/1, temperatura de injetor 270º C, detector 295ºC.

CROMATOGRAFIA EM COLUNA

Foram feitas tres coluna cromatográfica do óleo extraido da *Carpatroche Brasilienis* com massas de (C1 – 2,012 g), (C2 – 4,05 g) e (C3 – 6,002bg) em uma coluna de 45 cm de altura e 3cm de diâmetro, preenchida com sílica até 25 cm de altura na coluna. Esta amostra foi eluida utilizando 600 mL Hex/AcOEt 5:1; 100 ml de Etanol. Após concentração das frações em evaporador rotatório sob pressão reduzida e utilização de CCD, foram obtidas nove frações. As frações C2FPB (0,876 g) e C2FPC (1,726 g) por apresentarem um único ponto na plaquinha de CCD, foram transesterificadas (50 mg) e injetadas em CG-FID.

PURIFICAÇÃO DOS CICLOSPENTENICOS

Após o fracionamento por CC, análise em CCD e analise dos dados obtidos no CG-FID , 200 mg da fração C2FPC foi eluida em coluna cromatográfica tendo como fase estacionária gel de sílica, coluna de 35 cm, preenchida ate 20 cm, fase móvel uma mistura de Hex/AcOEt 2:1. Desta coluna foram recolhidas 40 subfrações de 5 mL cada, as quais foram agrupadas em 15 frações, após análise em CCDC reveladas em UV (254 e 365 nm) e iodo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalhos estão divididos em duas partes. A primeira refere-se ao estudo do processo de extração do óleo da semente da carpatrochis Brasiliesis , a segunda refere-se ao estudo do processo de purificação e obtenção dos ciclopentênicos presente na amostra.

Preparo da amostra

Antes da extração é necessário o preparo da amostra, que inclui descascamento, limpeza, secagem, desintegração e aquecimento. Estas operações dependem do tipo e da qualidade da matéria-prima (BRENNAN et al., 1990;).

Após o secagem obteve-se os seguintes resultados:

Tabela 1 – Valores obtidos no processo de secagem.

Quantidade de fruto	Peso inicial das sementes (g)	Peso após secagem (g)
01	33,13	31,01

O grau de umidade da amostra foi representado pela perda de peso quando esta foi submetida ao método de estufa a 105 °C/24h. É o fator mais importante e que exerce influência na deterioração de sementes armazenadas. Mantendo-se a umidade em níveis baixos, os demais fatores exercerão efeitos gradualmente diminuídos. Haverá menor ataque de microrganismos, tais como fungos e bactérias e a diminuição da respiração.

A quantidade de água contida nas sementes é designada baseando-se no peso da água e geralmente é expressa em porcentagem.

O experimento foi realizado em uma única vez e o valor encontrado expresso em porcentagem do peso da amostra original. O teor de umidade encontrado foi de

6,4%, observando-se baixa umidade na amêndoa. Sementes e amêndoas de baixa umidade e elevado teor de óleo favorecem a extração mecânica, desse modo viabilizanda o uso de prensas.

Considerando-se os resultados do teor de água obtidos pelo método padrão da estufa a 105 ºC/24h pode-se considerar o que foi dito por Bragantini (2005) que o teor ideal para oleaginosas é de 4,0 a 9,0%. Portanto, as sementes de *C. Brasiliensis* do presente estudo apresentaram valores dentro dos padrões considerados ideais para as mesmas.

Extração por Prensagem

Foi feita a extração à temperatura ambiente (extração a frio), em pequena escala. Os resultados obtidos nas extrações mecânicas na prensa hidráulica para a extração do óleo da *C. brasiliensis* estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados para a extração mecânica da amedoa da *C. Brasiliensis*

Pressão (toneladas)	Renrendimento (g)	Teor de óleo (%)	Teor de óleo real (%)	Perdas (%)	Rendimento da extração (%)
10	21,72	70,05	77,90	7,85	89,92

Na literatura existem inúmeros artigos e trabalhos com diversos valores de teor de óleo para as variadas espécies porém, a estudada neste trabalho, *C. Brasiliensis*, carece de pesquisas e estudos na área de extração de óleos por prensagem Hidráulica.

Durante o processo de extração ocorreram perdas reduzidas levando em consideração dados da literatura, Cavalcante (2013) encontrou perdas equivalentes a 6,86% do óleo extraído, utilizando a pressão extração de óleo de sementes de maracujá, enquanto Santos (2013) obteve 4,5% de perdas em média por extração, quando utilizou 100 gramas de ouricuri. A perda de 7,85% de massa encontra-se dentro do esperado para esse tipo de extração.

O teor de oléo de 70,05 % obtido por prensagem hidráulica, é um valor além do esperado, visto que segundo dados da Embrapa o teor de oléo extraidos de amendoas está em torno de 40 a 60% como mostra a tabela abaixo:

Tabela 3. Matérias-primas para extração de óleo por prensagem.

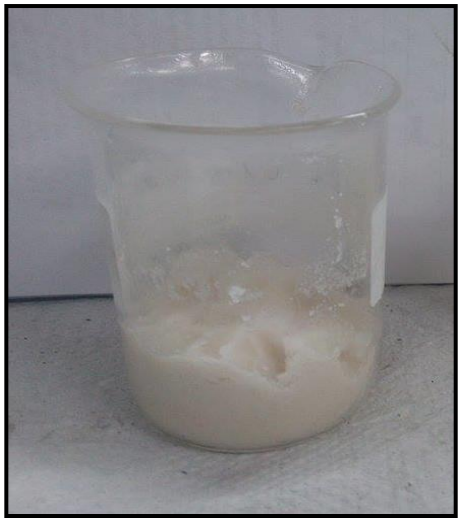
Matéria-prima	Material utilizado para extração de óleo	Teor de óleo (%)	Umidade (%)
Palma (*Elaeis guineensis*)	Amêndoa	40 - 50	Abaixo de 10
Babaçu (*Orbynia oleífera*)	Amêndoa	40 - 50	Abaixo de 10
Pinhão manso (*Jatropha curcas*)	Amêndoa	50	Abaixo de 10
Macadâmia (*Macadamia integrifolia*)	Amêndoa	50-60	Abaixo de 10
Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa)*	Amêndoa	50-60	Abaixo de 10
Macaúba (*Acrocomia aculeata*)	Amêndoa	40 - 50	Abaixo de 10

Fonte: Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Assim, o processo por prensagem mostrou-se uma ótima alternativa a ser empregada. È um procedimento que não utiliza energia elétrica, solventes e não gera aquecimento nem no óleo e na torta, sendo necessário apenas uma prensa e um cilindro extratator. Alem de ter um bom redimento do produto extraído. Quando todas as etapas deste método são respeitadas (coleta, higienização, conservação e principalmente a secagem) a polpa apresenta as condições ideais quanto a umidade e viscosidade, para que a força exercida (10 toneladas) no momento da extração seja o suficiente para extrair somente o óleo, em quantidades satisfatórias e bem próximas a obtida quando usa-se solvente.

Observou-se que o óleo no momento da extração era líquido mas logo em seguida solidificavam a temperatura ambiente.

Figura 8 – Óleo extraído da *C. Brasiliensis*



Extração com solvente

Após extração do óleo da torta em aparelho soxhlet sob refluxo com hexano a 70 °C por 6 hora. Obteve-se os seguintes resultados:

Tabela 4 - Rendimento da extração com solvente

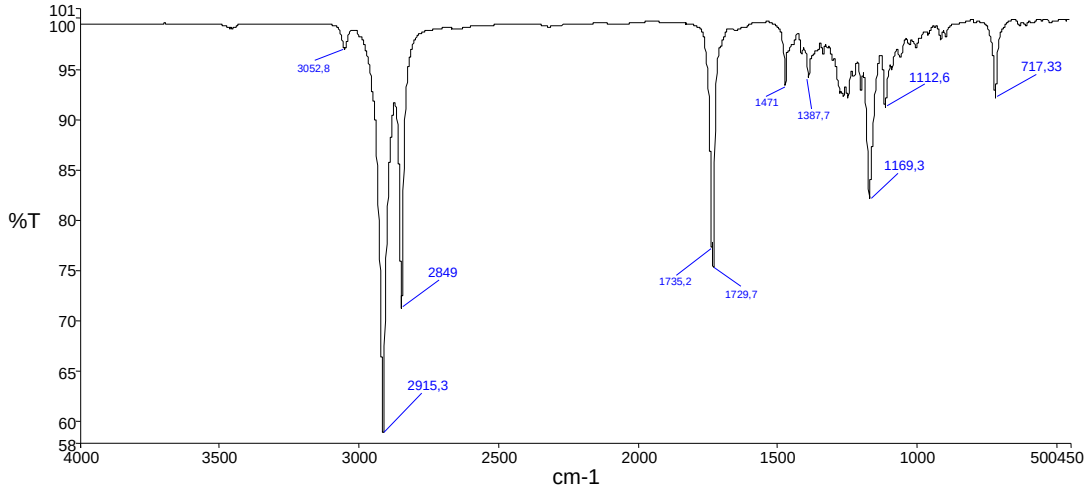
Cartucho	Massa inicial (g)	Massa obtida da extração (g)	Teor de óleo %
01	3,08	2,25	73
02	3,09	2,27	73,46
03	3,12	2,33	75,65
Médio Teor de óleo		74%	

O teor de 74% de óleo é compatível com resultados reportados por Gutierrez Et all (1997), entre 60 e 70. A combinação de extração mecânica e extração por solvente se mostrou uma alternativa eficiente, caracterizando-se uma ótima opção de processo.

ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO

O espectro de absorção no infravermelho do óleo Bruto (FIGURA 9) apresentou sinais em 1737,3 cm-1 e 1168,6 cm-1 indicam a função éster, sendo o sinal em 1737,3 cm-1 correspondente a vibrações de estiramento da ligação C=O e em 1168,6 cm-1 da ligação C–O. Suspeitou-se com isso que a amostra seja um triacilglicerídeo, logo, foi feito uma reação de transesterificação.

Figura 9 - Espectro obtido do infravermelho utilizando o éster metílico da *Carpotroche brasiliensis*



REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

A obtenção dos ésteres metílicos por transesterificação corresponderam a três reações consecutivas e reversíveis, nas quais são formados di- e mono-acilglicerídeos como intermediários.

Apesar da estequiometria geral da equação requerer três mols do mono-álcool para cada mol de triacilglicerídeo, a reversibilidade das reações torna necessário um excesso de álcool no meio reacional para promover um aumento no rendimento em mono-alcoóis. A razão molar estequiométrica de álcool e óleo na transesterificação é de 3:1 (três mols de álcool para um mol de óleo), porém, o amplo excesso de álcool, 6:1 é utilizado para deslocar o equilíbrio químico a fim de maximizar a produção de ésteres graxos, como prescrito na literatura. A alcoólise em meio alcalino muito é sensível à presença de ácidos graxos livres, pois estes reagem com a base utilizada como catalisador, levando a formação de sabões que inibem a alcoólise ou diminuem o rendimento do processo.

Utilizou-se na reação de transesterificação como catalizador o metóxido de sódio, pois este apresentou melhores rendimento que os hidróxidos adicionados separadamente, isto pelo fato de na reação do hidróxido de sódio com metanol pode haver a formação de água no meio e a presença de água pode promover a hidrólise de ésteres formados.

Realizado os cálculo de rendimento dos ésteres metílicos obtidos das reações obtiveram-se:

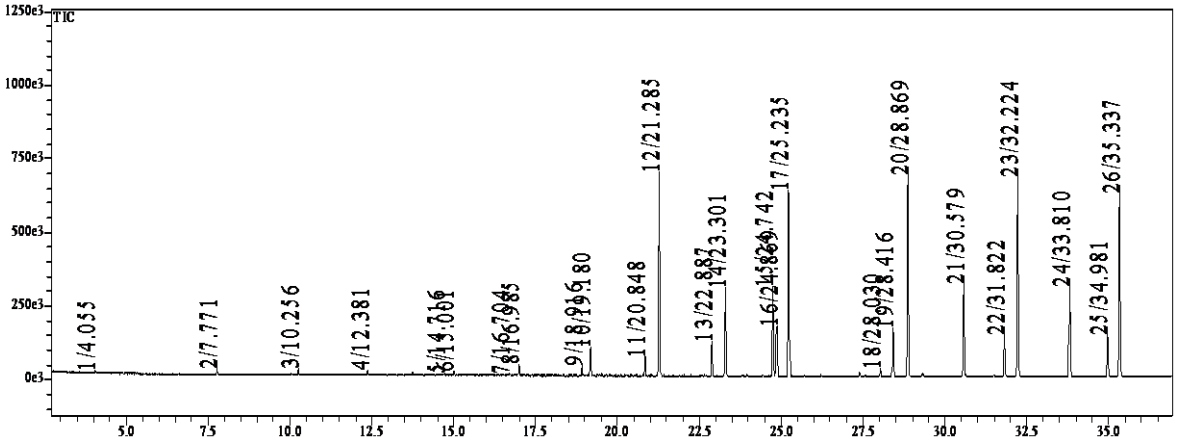
Tabela 5- Valores de rendimento obtidos na transterificação

Espécies	Rendimento %	Desvio Padrão %
Carpotroche brasiliensis	65,5	2,9

6.8. ANÁLISE POR CG-EM

A cromatografia é um método bastante utilizado na separação, identificação e determinação de misturas. O espectrômetro de massas (EM) foi utilizado como detector na técnica cromatográfica. Os ésteres metílicos foram analisados no CG/EM , sendo estes s comparados com o cromatograma dos ésteres metílicos padrões C4 a C24.

Figura 10- Cromatograma padrão de ésteres metílicos (c4 – c24).



Analisado através do cromatograma os principais picos referente a amostra da *Carpotroche brasiliensis* foram encontrados uma mistura de metil ésteres oriundas dos ácidos: Palmítico ($C_{16}H_{31}O$), 11-(ciclopent-2-enil) undecanóico ($C_{16}H_{27}O$), 13-(ciclopent-2-enil) tridec-6-enóico (C_{18} $H_{29}O$), ($C_{19}H_{34}O$). Sendo alguns ésteres comumente encontrados em espécies oleaginosas utilizados, no entanto a presença de um anel no final da cadeia deixa essa espécie com uma característica diferenciada, visto que isto não é comumente encontrado.

Estrutura química do óleo da *Carpatroche Brasiliensis*

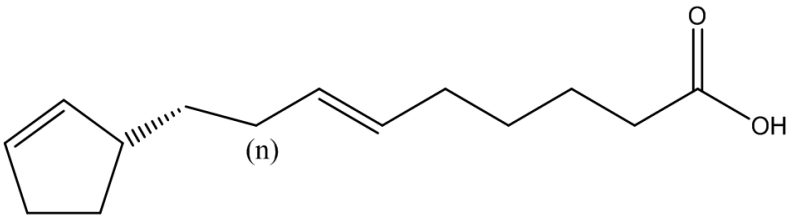


Figura 11 - Cromatograma CG-EM do éster metílico da *C. Brasiliensis*.

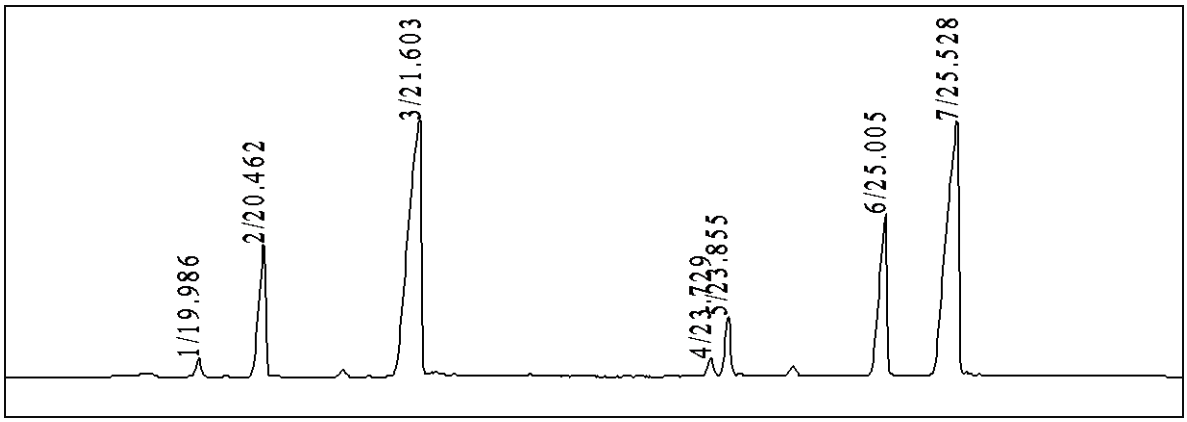
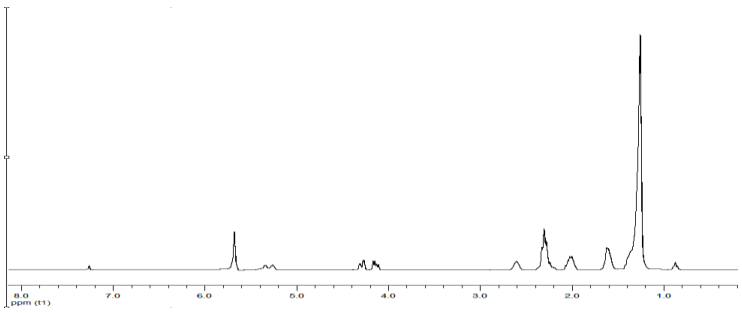


Tabela 6 - Dados obtidos do CG-EM utilizando o éster metílico.

Mistura de padrões	Tempo de retenção do padrão	Ester metílico *Carpotroche brasiliensis*
C16H310	20.4	Metil éster do ácido hexadecanoico – ácido Palmítico
C18H35O	24.3	Metil éster do ácido esteárico
C16H27O	21,60	Metil éster do ácido 11-(ciclopent-2-enil) undecanóico
C18H29O	25,00	Metil éster do ácido 13-(ciclopent-2-enil) tridecanóico
C19H34O	25,52	Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico

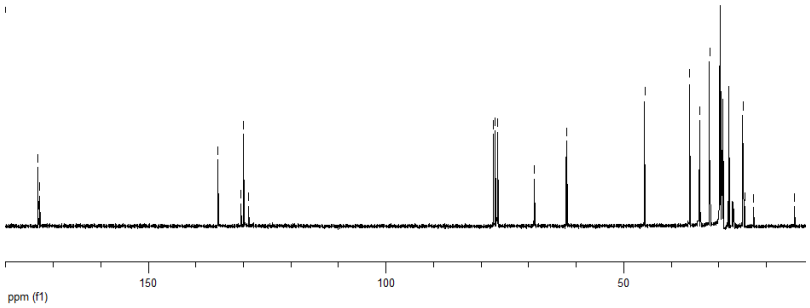
ANÁLISE POR ESPECTOMETRIA DE RMN

Figura 12 : Espectro de RMN ^{1}Hdo óleo da *Carpatroche Brasiliensis* [700 MHz, □ (ppm)]



Analisando o espectro de RMN ^{1}H (figura X) foi possível notar o surgimento do sinal de hidrogênio olefínico em δ5,68. O deslocamento em δ4,3 se refere aos hidrogênios da metila ligada a carbonila da função éster. Os deslocamentos dos hidrogênios ligados aos carbonos sp3 do anel ciclopentênico estão na região de δ2,3 - 2,6.

Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C do óleo da *Carpatroche Brasiliensis* [700 MHz, □ (ppm)]



A comprovação estrutural do óleo da *Carpatroche Brasiliensis* também pode ser realizada através da análise do espectro de RMN de ^{13}C(Figura 12) que apresentou sinais característicos tais como o aparecimento dos carbonos sp_2 de éster em δ173,1. Os deslocamentos químicos em δ129, 9 referente a carbonos sp_2 adjacente a carbonila, em δ 135,4 ligado a cadeia lateral. O carbono sp_3 adjacente a carbonila está localizado em δ 36,1.

Estes dados aliados à comparação com os daos de CG-MS e com os descritos na literatura permitiram confirmar a estrutura do oleo da *Carpatroche Brasileinsis.*

PURIFICAÇÃO DOS CICLOPENTENICOS

O óleo obtido da *Carpatroche Brasiliensis* foi submetida à CC empregando-se gel de sílica como suporte. Para melhor redimento no processo de purificação dos ciclopetenicos presentes na amostra foi feito um ajuste de metodologia tendo como objetivo mostrar que o método é adequado para seu propósito. Utilizou-se três massa distintas (tabela 7), (tabela 8) e (tabela9), mantendo os demais fatores idênticos. Em cada coluna foram recolhidas 20 frações que foram reunidas posteriormente em 9 subfrações. As frações recolhidas após a eluição de cada coluna foram reunidas de acordo com a semelhança observada por CCD.

Tabela 7 - Frações agrupadas da coluna C1FP (2,0) obtidas por CC do óleo bruto da *C. Brasiliensis.*

Código	Frações reunidas	Massa	Massa %

		(g)	
C1FPA	1-2	0,021	**1,89**
C1FPB	3	0,461	**22,01**
C1FPC	4	0,976	**45,38**
C1FPD	5	0,191	**9,89**
C1FPE	6	0,099	**6,57**
C1FPF	7-10	0,058	**3,89**
C1FPG	11-14	0,032	**1,78**
C1FPH	15-19	0,052	**2,89**
C1FPI	20	0,080	**6,3**

Tabela 8: Frações agrupadas da coluna C2FP (4,0) obtidas por CC do óleo bruto *C. Brasiliensis*

Código	Frações reunidas	Massa (g)	Massa %
C2FPA	1-2	0,043	**1,09**
C2FPB	3	0,876	**23,54**
C2FPC	4	1,726	**49,81**
C2FPD	5	0,394	**9,76**
C2FPE	6	0,262	**5,03**
C2FPF	7-10	0,158	**2,97**
C2FPG	11-14	0,071	**1,62**
C2FPH	15-19	0,115	**2,65**
C2FPI	20	0,251	**4,10**

Tabela 9: Frações agrupadas da coluna C3FP (6,0g) obtidas por CC do óleo bruto *C. Brasiliensis*

Código	Frações reunidas	Massa (g)	Massa %
C3FPA	1-2	0,090	**1,50**
C3FPB	3	1,356	**22,61**
C3FPC	4	2,388	**39,81**
C3FPD	5	0,585	**9,75**
C3FPE	6	0,544	**9,08**
C3FPF	7-10	0,405	**6,63**
C3FPG	11-14	0,105	**1,75**
C3FPH	15-19	0,099	**1,66**
C3FPI	20	0,444	**7,24**

Analisando os dados de cada coluna observou-se que os rendimentos das frações estão seguindo os mesmo padrões e manteve as massas (%) bem próximas, mostrando que o método é eficaz para a separação.

Observou-se também as características físicas de cada fração agrupada, listada abaixo :

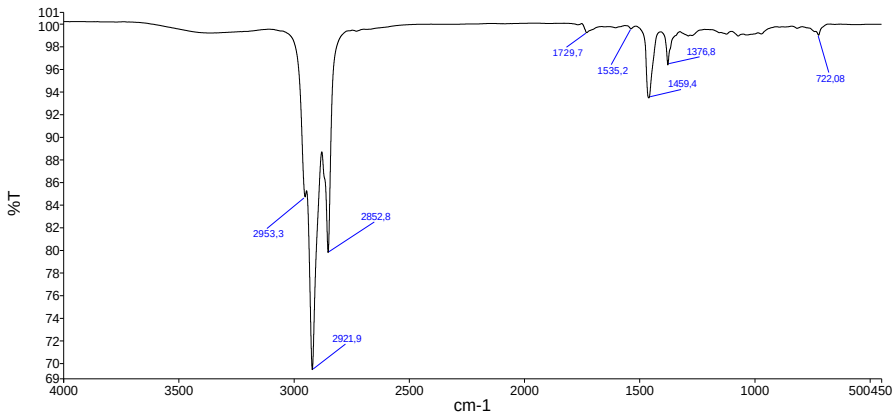
Tabela 10: Estado físico das frações

Código	Frações reunidas	Caracteristica Fisica
C_{123}FPA	1-2	**Liquido amarelo**
C_{123}FPB	3	**Sólido levemente amarelo**
C_{123}FPC	4	**Sólido branco**
C_{123}FPD	5	**Liquido viscoso incolor**
C_{123}FPE	6	**Liquido incolor**

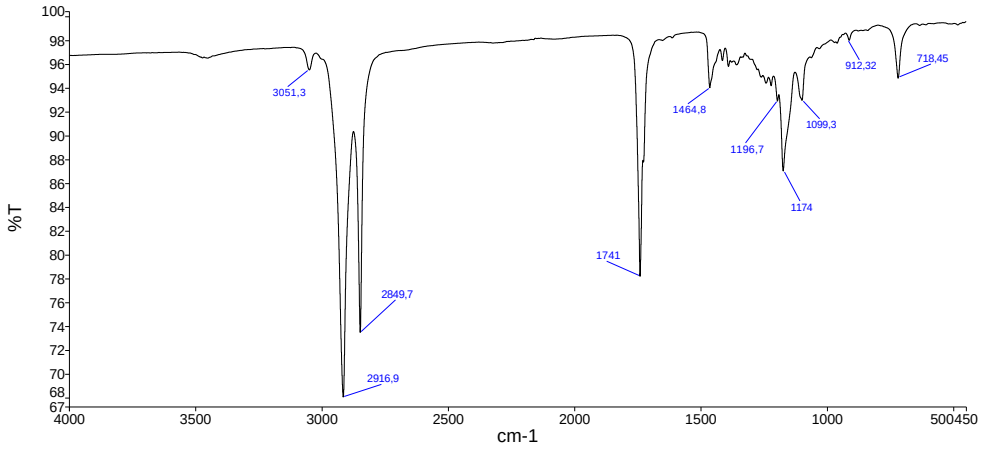
C_{123}FPF	7-10	**Liquido levente amarelo**
C_{123}FPG	11-14	**Liquido amarelo claro**
C_{123}FPH	15-19	**Liquido amarelo claro**
C_{123}FPI	20	**Liquido amarelo escuro**

Após reunidas as frações foram feitas a analise no Infravermelho, para identificar os grupos presentes em cada fração, foram feitos analise das três colunas, coluna 1 (2,0 g), coluna 2 (4,0 g) e coluna 3 (6,0 g).Os espectros estão demonstrados abaixo :

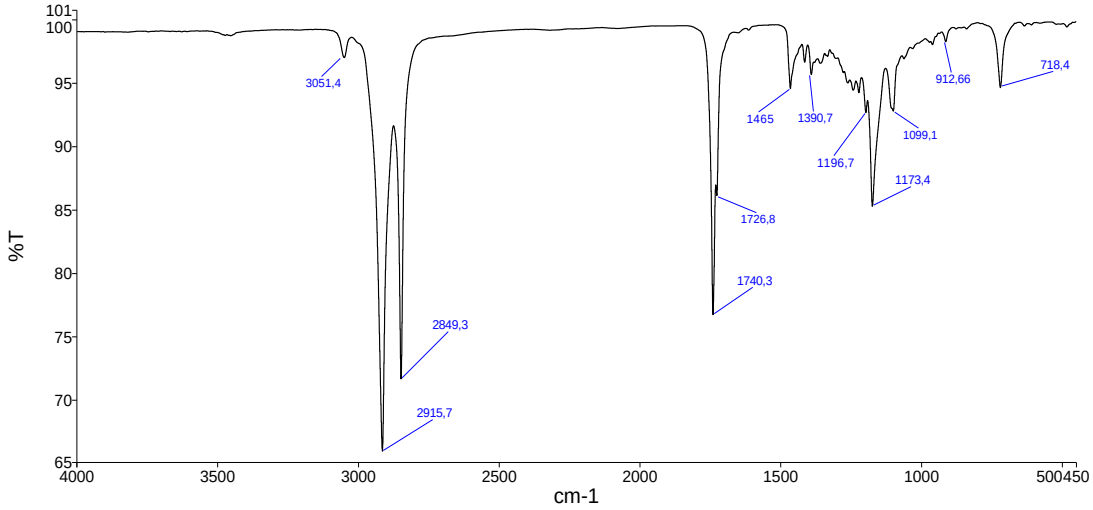
Figura 14 – Espectros de Infravermelho (IV) das frações obtidas na Coluna Cromatográfica C2FP. A-C2FP(1-2), B- C2FP(3), C-C2FP(4), D-C2FP (5), E-C2FP6), F- C2FP(7-10), G- C2FP(11-14), H- C2FPG(15-19), I-C2FP(20)



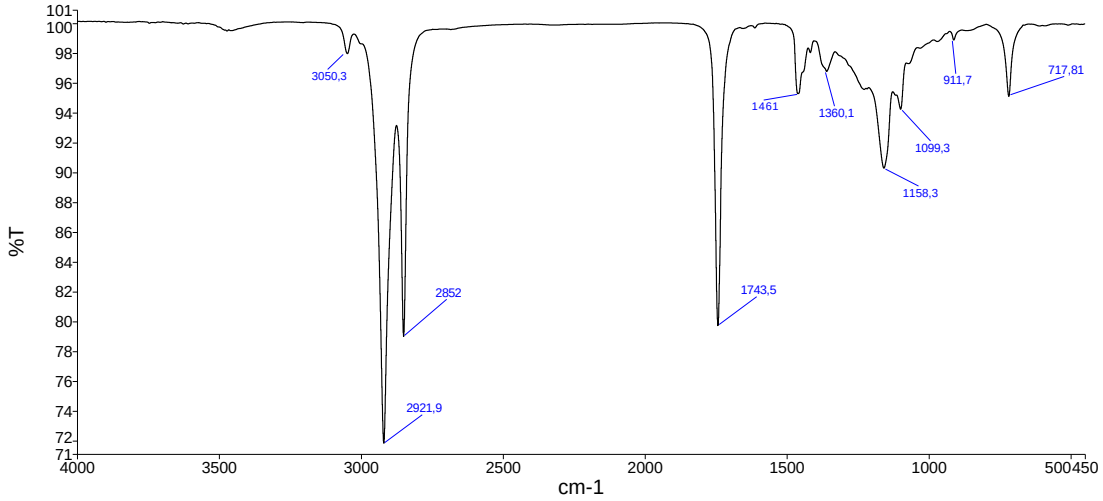
A



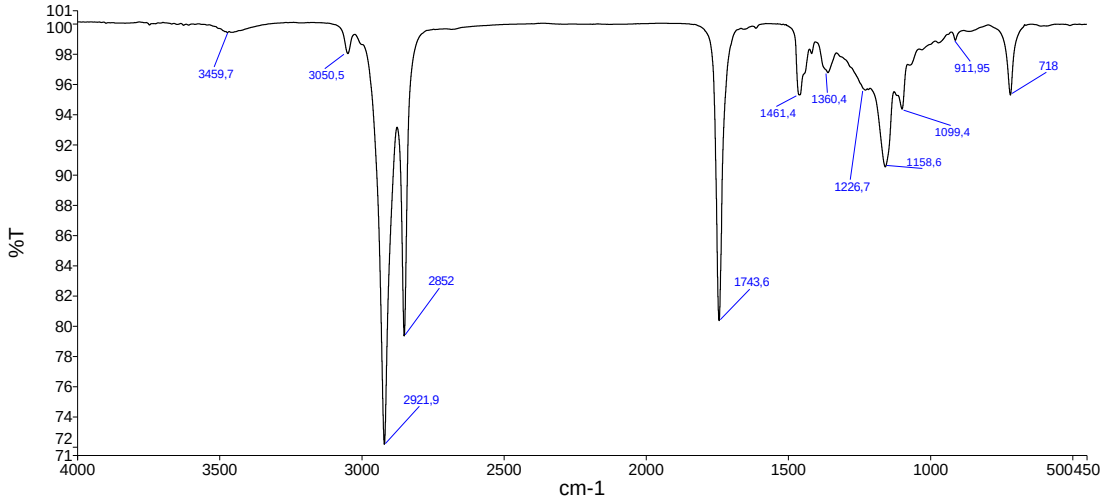
B


%T
cm-1
3051,4
2849,3
2915,7
1465
1390,7
1196,7
1726,8
1740,3
1173,4
1099,1
912,66
718,4

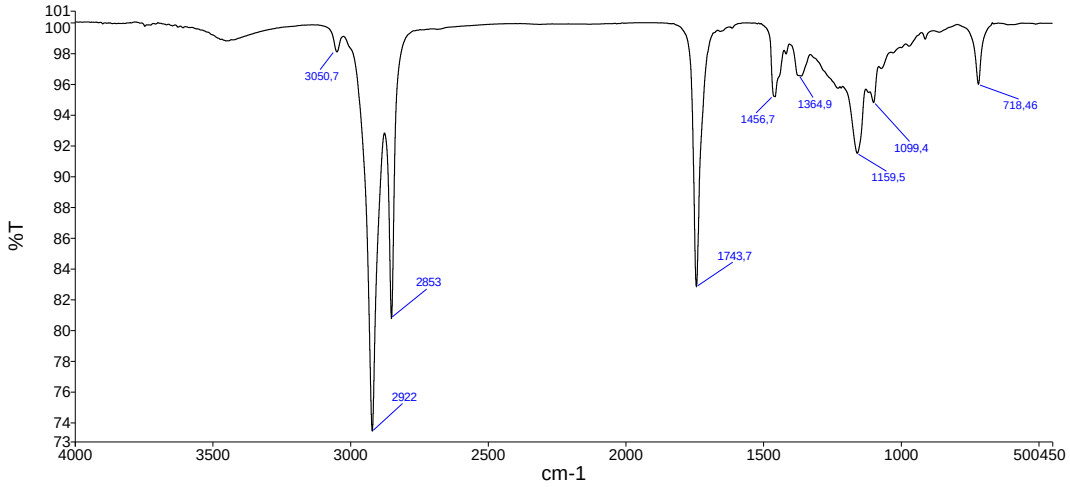
C


%T
cm-1
3050,3
2852
2921,9
1461
1360,1
1743,5
1158,3
1099,3
911,7
717,81

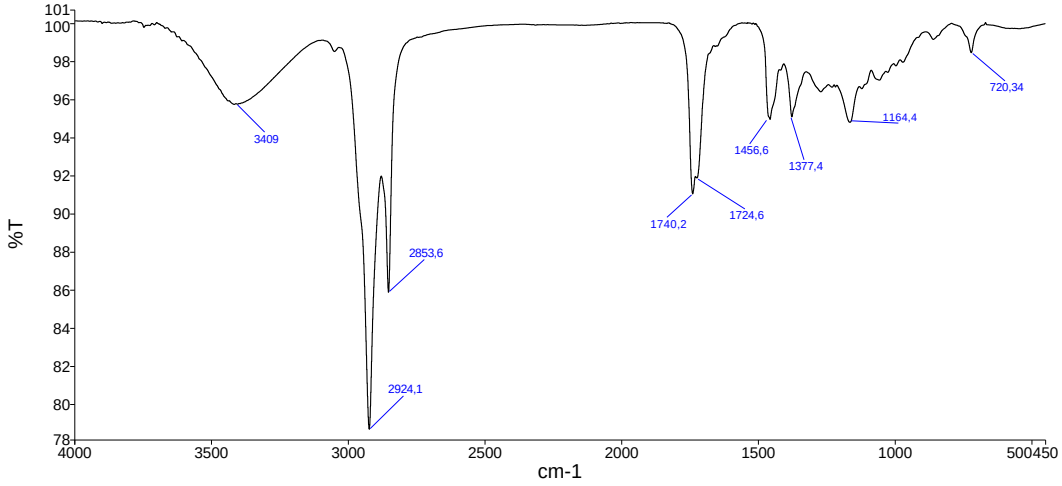
D


%T
cm-1
3459,7
3050,5
2852
2921,9
1461,4
1360,4
1743,6
1226,7
1158,6
1099,4
911,95
718

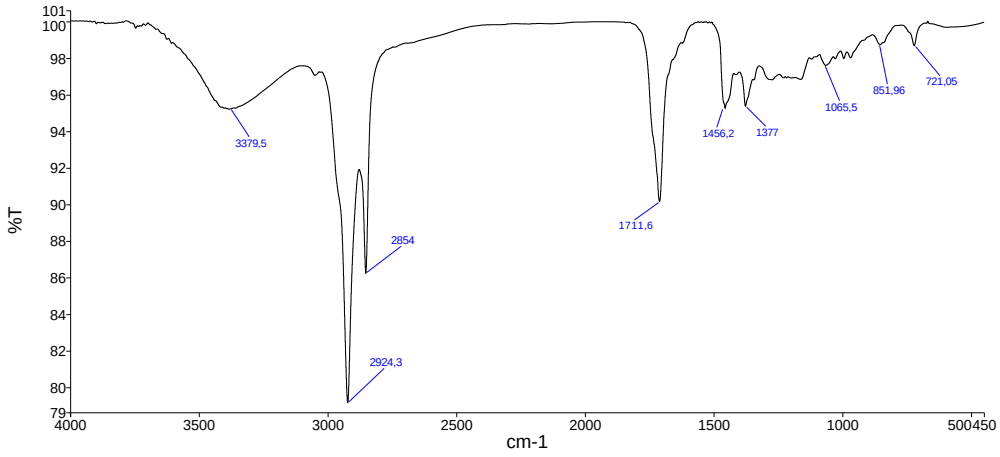
E


%T
cm-1
3050,7
2853
2922
1743,7
1456,7
1364,9
1159,5
1099,4
718,46

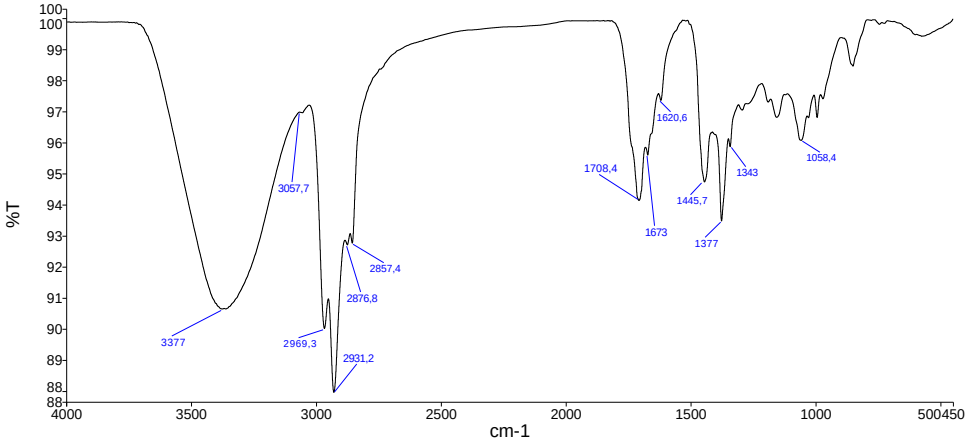
F


%T
cm-1
3409
2853,6
2924,1
1740,2
1724,6
1456,6
1377,4
1164,4
720,34

G


%T
cm-1
3379,5
2854
2924,3
1711,6
1456,2
1377
1065,5
851,96
721,05

H



I

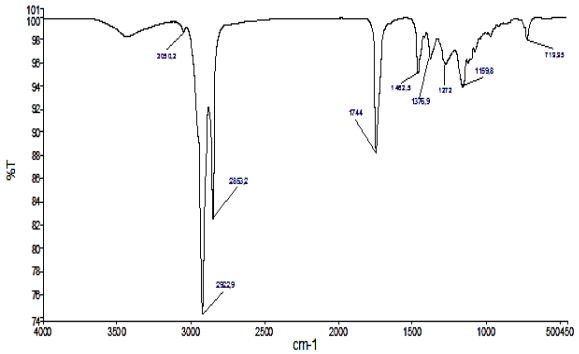
O espectro A, observou-se que não tem presença da banda de carbonila em torno de 1741 cm^{-1}, no entanto apresentou picos de dobramento de ligação CH_2 e CH_3 na faixa de 1475 a 1363 cm^{-1}. Nos espectros B e C têm a presença de banda C=O em torno de 1715 cm^{-1}, característica de éster, no entanto, na imagem C o pico referente a absorção de dobramento da ligação CH_2 em torno de 1465 cm^{-1} que pode ser característica de ligações cíclicas, presente nos ciclopentênicos, está em maior intensidade.

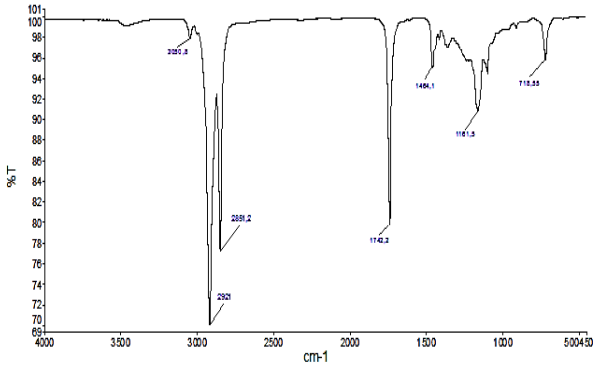
Nos espectros D, E e F, começa a se diferenciar das anteriores pela presença de absorções em torno de 3.460 cm^{-1} características de ligação O-H de ácido carboxílico. Quanto maior a intensidade da banda maior a concentração, assim na imagem F a banda começa a ficar um mais pouco evidente.

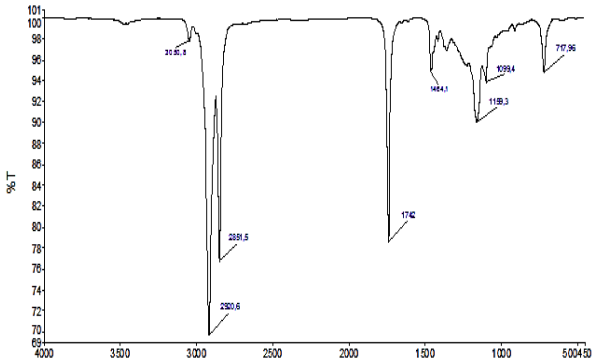
Nos espectros G, H e I observa-se que nos três espectros a ligação O-H está presente, com maior intensidade no I, assim sendo amostra pode ser possivelmente um ácido carboxílico.

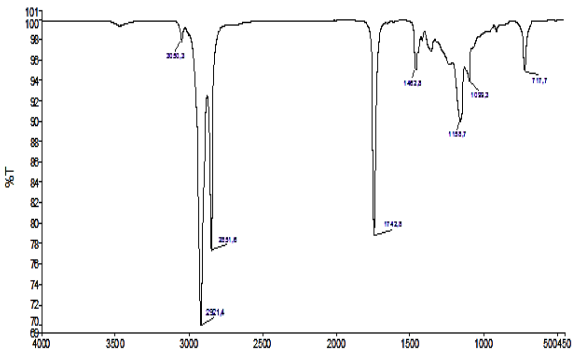
Observou-se que os espectro de IV da coluna C1FP (Figura 15) e coluna C3FP (Figura 16) estão todos seguindo o mesmo padrão dos espectros da coluna C2FP (Figura 14).

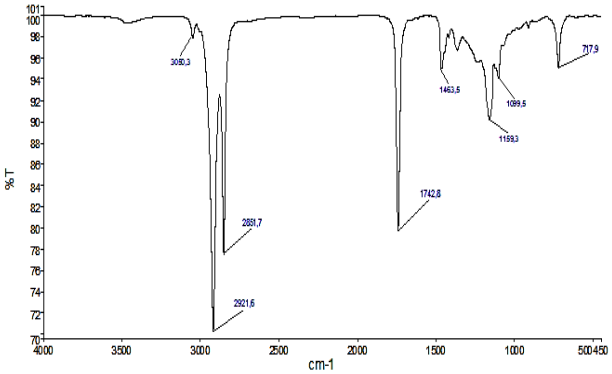
Figura 15 - Espectros de Infravermelho (IV) das frações agrupadas obtidas na Coluna Cromatográfica C1FP.

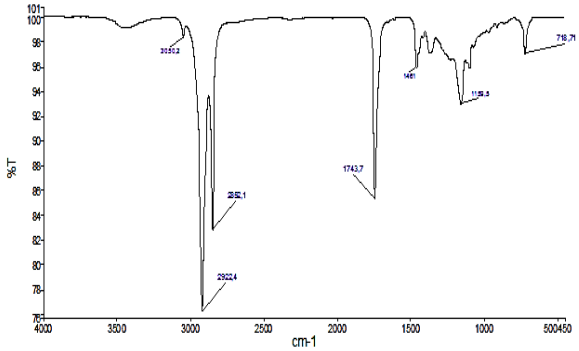

%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,3
2853,2
2922,9
1744
1463,5
1376,9
1372
1159,8
719,95

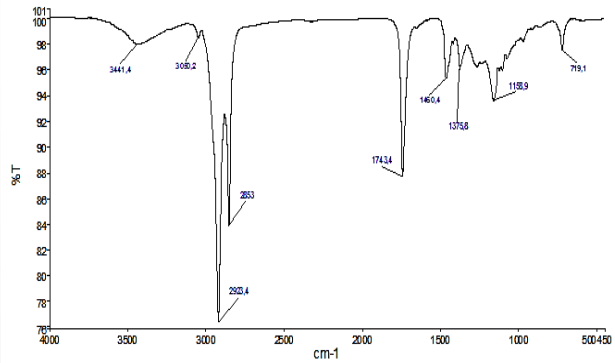

%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,8
2851,2
2921
1742,3
1464,1
1161,5
718,55

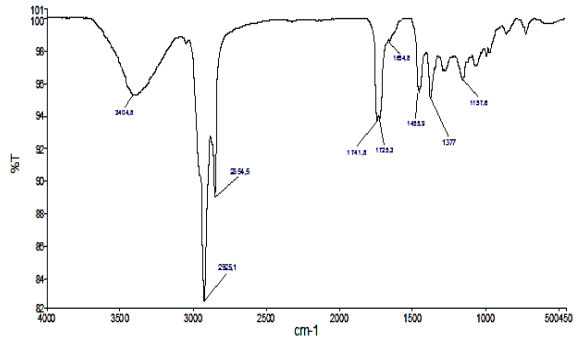

%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,8
2851,5
2920,6
1742
1464,1
1099,4
1159,3
717,96


%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,3
2851,8
2921,4
1742,5
1463,8
1099,3
1159,7
717,7


%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,3
2851,7
2921,6
1742,8
1463,5
1099,5
1159,3
717,9


%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3050,2
2852,1
2922,4
1743,7
1461
1159,5
718,71


%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3441,4
3050,2
2853
2923,4
1743,4
1460,4
1375,8
1159,9
719,1


%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3434,8
2854,5
2925,1
1741,8
1723,2
1464,5
1377
1157,6

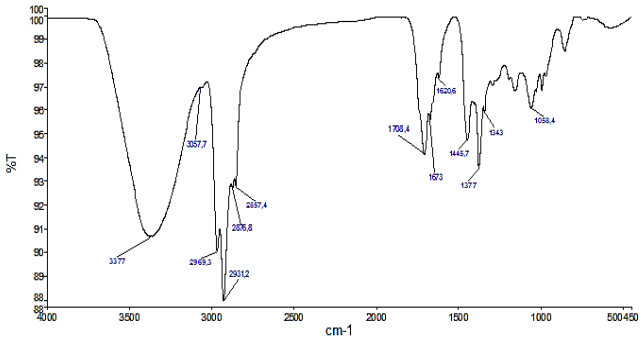
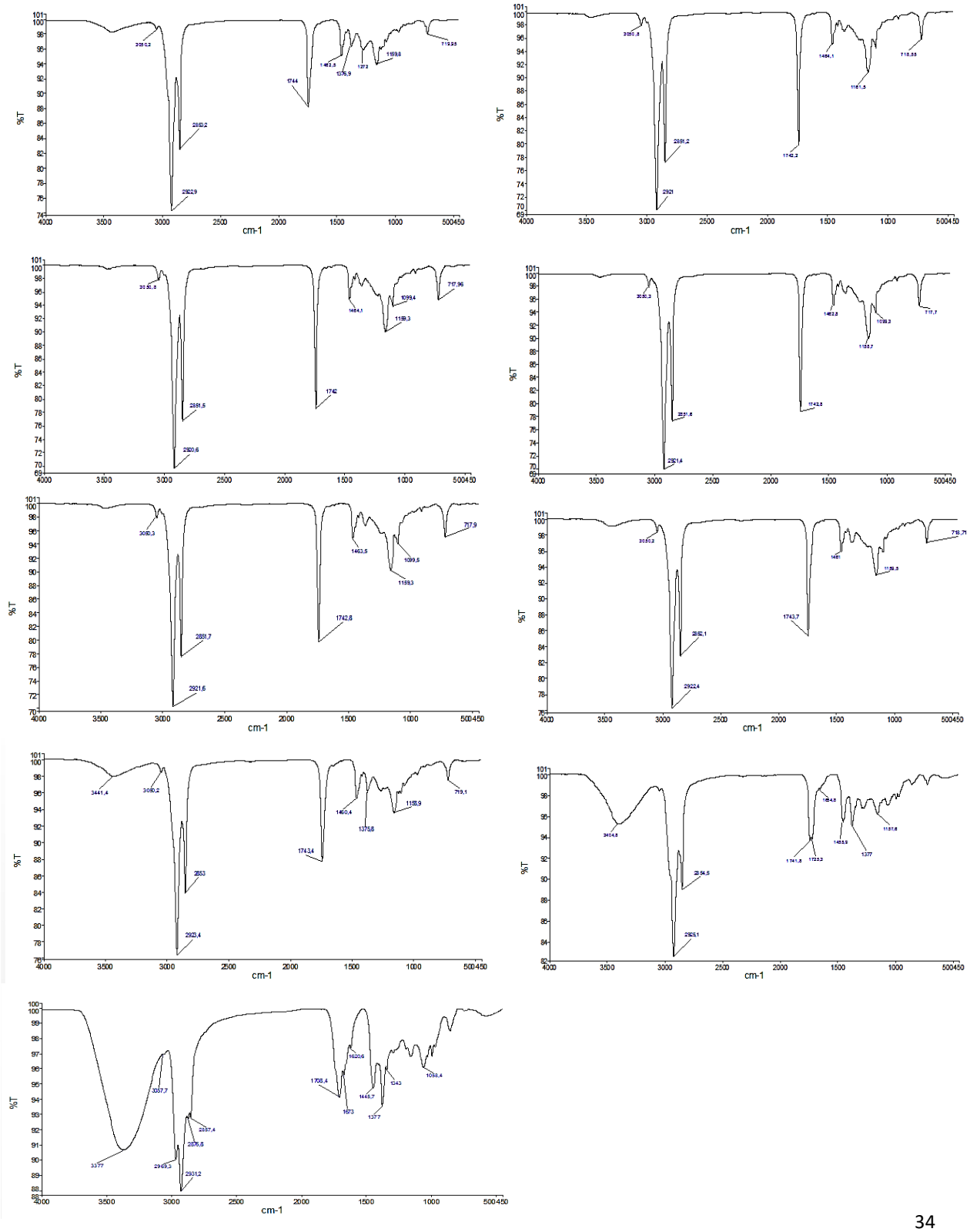

%T
cm-1
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500 450
3377
3057,7
2969,3
2931,2
2876,6
2837,4
1708,4
1693
1620,6
1445,7
1377
1343
1058,4

Figura 16 - Espectros de Infravermelho (IV) das frações agrupadas obtidas na Coluna Cromatográfica C3FP



Observando o CG-DIC do óleo Bruto (FIGURA 17), nota-se que a mesma se trata de uma mistura das substâncias ácido palmítico, ácido esteárico e de uma série homóloga de ácidos ciclopentênicos de cadeia carbônica menor, as quais tiveram suas estruturas elucidadas por meio de CG- EM (Figura 18, TABELA 17) e por comparação com os dados descritos na literatura (OLIVEIRA, 2009).

Esses dois sistemas cromatográficos, usados em conjunto, permitem um grau muito mais preciso de identificação das substâncias de interesse, do que qualquer unidade usada separadamente.

O processo de espectrometria de massa normalmente requer uma amostra muito pura, enquanto a cromatografia gasosa usando um detector tradicional (detector de ionização de chama - FID) não consegue diferenciar entre múltiplas moléculas que passam a mesma quantidade de tempo para percorrer a coluna (ou seja, têm o mesmo tempo de retenção), que resulta em duas ou mais moléculas que colidem. Observou-se nos cromatogramas que o tempo de retenção das análises não foram idênticas, isso pode ter ocorrido pela utilização de colunas e técnicas diferentes. No entanto, a combinação dos dois processos reduz a possibilidade de erro, pois é extremamente improvável que duas moléculas diferentes se comportem da mesma maneira tanto em um cromatógrafo a gás quanto em um espectrômetro de massa.

Figura 17 – Cromatograma obtido a partir do óleo bruto da *C. Brasiliensis* por CG-DIC

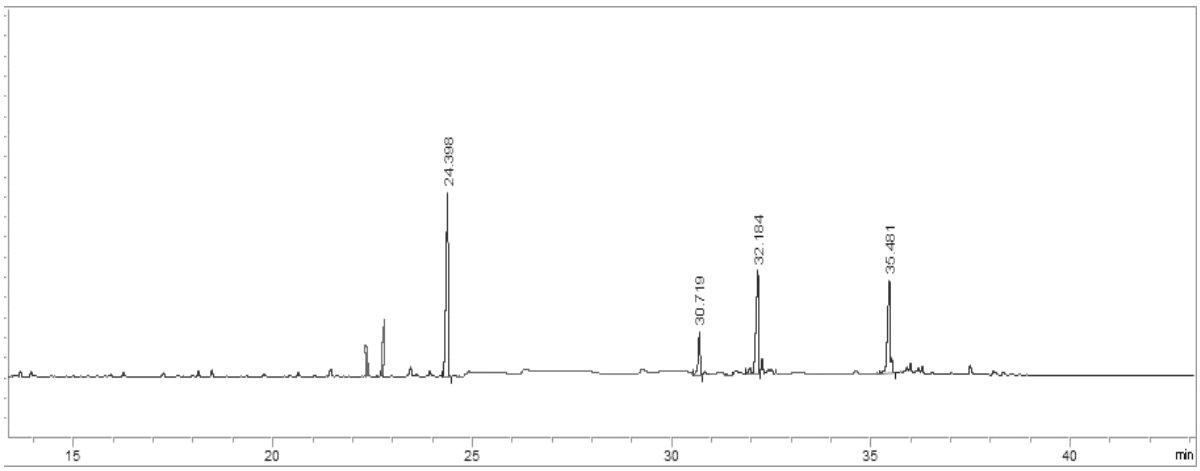


Figura 18- Cromatograma obtido a partir do óleo bruto da *C. Brasiliensis* por CG-EM.

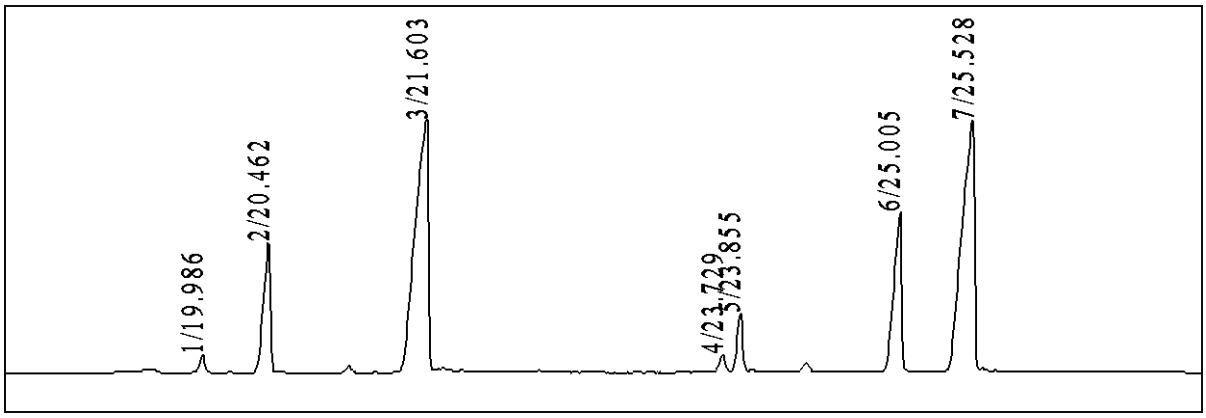


Tabela 17 - Dados obtidos do CG-EM utilizando o éster metílico.

Mistura de padrões	**Tempo de retenção do padrão**	**Ester metílico *Carpotroche brasiliensis***
C16H310	20.4	Metil éster do ácido hexadecanoico – ácido Palmítico
C18H35O	24.3	Metil éster do ácido esteárico
C16H27O	21,60	Metil éster do ácido 11-(ciclopent-2-enil) undecanóico
C18H29O	25,00	Metil éster do ácido 13-(ciclopent-2-enil) tridecanóico
C19H34O	25,52	Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico

Pela análise do CG-DIC da fração C2FPC (FIGURA 19), foi possível identificar a substância majoritária (TR= 35,005) por comparação do espectro de massas presente na amostra com o da biblioteca (figura), sendo confirmada o possível presença do Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico, .

A fração C2FPC (200 mg), foi passada novamente pelo processo de separação por cromatografia em coluna, para melhor purificação dos ciclopentenicos, após agrupadas as frações, observando as características físicas e a CCD, a subfração SCFPE (fração 5-10) que obteve massa de 65 mg foi transesterificada, e 50 mg submetida a análise pelo CG-FID onde pôde-se

identificar por comparação dos espectros a purificação quase que total do ciclopentenico (Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico presentes na amostra (FIGURA 20).

Figura 19- Cromatograma obtido da fração C2FPC por CG- DIC.

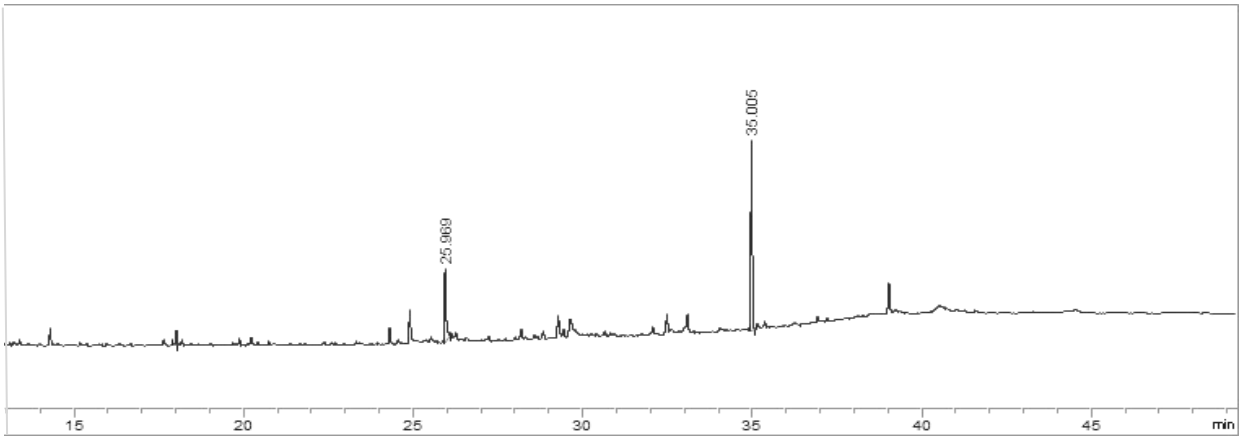
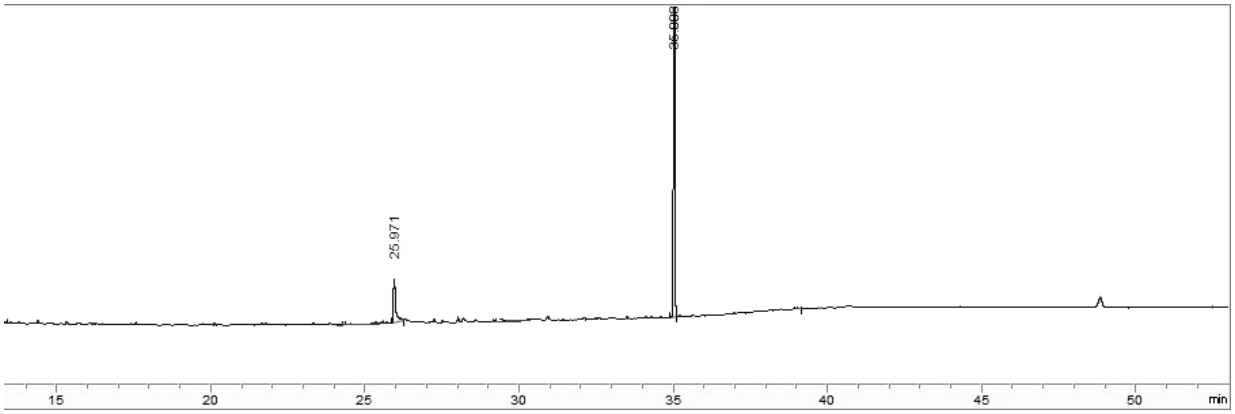


Figura 20 - Cromatograma obtido da subfração SCFPE por CG-DIC.



Entre 1861 a 1869, Peckolt fez seus principais estudos sobre o *C. brasiliensis (Endlicher)*. Das sementes ele extraiu um óleo amarelado que servia para azeite de lampião. Deste óleo foi isolada uma fração, à qual deu o nome de ácido carpotróchico. A atividade contra os bacilos ácido-resistentes, observado com o óleo do *C. brasiliensis*, indicou fortemente o uso desse óleo, em substituição ao de

chaulmugra, no tratamento da lepra. Os ciclopentênicos podem atingir proporções de até 90% dos ácidos graxos totais de diferentes óleos de Chaulmugra. Os ácidos graxos ciclopentênicos encontrados no óleo de *C. brasiliensis*, a chaulmugra brasileira, têm estrutura química relacionada às prostaglandinas, eicosanóides envolvidos em vários processos fisiológicos e fisiopatológicos (BITTENCOURT, 2017).

CONCLUSÃO

Os dados obtidos durante a extração do óleo das sementes de *C. brasiliensis* permitiram, após a discussão dos resultados, concluir alguns aspectos sobre essa matéria-prima. Através dos resultados obtidos nos diferentes procedimentos de extração, concluiu-se que o fruto coletada no estado da Bahia apresenta-se como uma ótima fonte de óleos. O teor de oléo de 70,05 % obtido por prensagem hidráulica, é um valor além do esperado, comprovando que a técnica por presagem é eficaz. A combinação de extração mecânica e extração por solvente se mostrou uma ótima alternativa quanto ao rendimento de óleo.

Quanto ao processo de purificação, os resultados apresentados demonstram que existe a possibilidade de separar os ciclopentenicos presente na mistura de ésteres extraídos das sementes dos frutos de *C. brasiliensis* mediante utilização das técnicas de cromatografia: CC, CCD, CG_MS, CG-FID.

Por meio do estudo químico da semente dos frutos de C. brasiliensis, foi possível identificar 5 (cinco) substâncias presente no óleo, sendo o Metil éster do ácido(ciclopent-2-enil) tridecanóico, um dos principais constituintes e o que foi purificado das demais substâncias.

A cromatografia em coluna mostrou-se eficiente no processo de obtenção dos ciclopentenicos, visto que foi possível através das análises obter uma amostra praticamente pura. Esta técnica é muito utilizada para isolamento e purificação de produtos naturais.

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi alcançada com satisfação, pois através dos métodos utilizados extraiu-se o óleo da semente presente na Carpotroche brasiliensis e purificou os ciclopentênicos para possíveis transformações químicas. Em vista dos resultados apresentados, sugere-se a continuidade deste trabalho.

PERSPECTIVAS FUTURAS

O uso do óleo de chaulmugra no tratamento da hanseníase e a semelhança estrutural dos seus constituintes com as prostaglandinas, fez com que surgisse o interesse fitoquímico para a investigação da sua composição química e da sua atividade farmacológica. Diante desse contexto sugere-se o estudo químico e biológico do óleo da *Carpotroche brasiliensis* para possíveis investigações da atividade antiinflamatória da fração purificada e realizar transformações químicas objetivando alcançar novas moléculas biologicamente ativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARAÚJO, D.R.C. PURIFICAÇÃO BIOGUIADA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE COMPOSTOS ATIVOS DE FOLHAS DE *Anadenanthera colubrina* var. *Cebil*. (Griseb.) Altschul. Tese de Doutorado. Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. 2018

BARROSO, G.M. et all. Sistemática de Angiospermas do Brasil. v.1. 2ª ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2002

BEDIAGA, B. Conciliar o útil ao agradável e fazer ciência: Jardim Botânico do Rio de Janeiro - 1808 a 1860. *Hist. cienc. saude-Manguinhos* [online]. 2007, vol.14, n.4

BRENNAN, J. G.; BUTTERS, J. R.; COWELL, N. D.; LILLEY, A. E. V. Food engineeringoperations. Linton Road, England: Elsevier Applied Science, 1990

BITTENCOURT, F. SEQUENCIAMENTO DO TRANSCRIPTOMA DE *Carpotroche brasiliensis*Raddi (ACHARIACEAE): APLICAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES GENÔMICOS RELACIONADOS AO SEXO E NA COMPARAÇÃO ENTRE FLORESTA NATURAL E AGROFLORESTA. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz. 2017.

DEGANI, A. L. G; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia um breve ensaio. QUÍMICA NOVA NA ESCOLA. Cromatografia N° 7, MAIO 1998

GOULART, D.S. APLICAÇÕES DAS TÉCNICAS DE CROMATOGRAFIA NO DIAGNÓSTICO TOXICOLÓGICO. Tese de Doutorado. Programa de PósGraduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 2012

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Primeira edição digital.

IUCN, *Plants in danger.* How do we know? Gland. Switzerland and Cambridge. 1986.

KLEIN, R.M; SLEUMER, H.O. 1984. Flacourtiáceas. In: Reitz R, ed. Flora ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1-96.

LIMA, L. R; DIAS, P; SAMPAIO, P.S.P. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Flacourtiaceae. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 22, 19–23. (2004)

LIMA, J.A.; OLIVEIRA, A.S; MIRANDA, A.L.P; REZENDE, C.M; PINTO, A.C.Anti-inflammatoryandantinociceptiveactivitiesofanacidfractionoftheseedsof *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). Braz J MedBiol Res, July 2005, Volume 38(7) 1095-1103

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, M. C.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Flora *Vascular do Cerrado*. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 1998. p. 289-556.

MÜHLEN, C.V; LANÇAS, F.M. Cromatografia unificada. Quím. Nova vol.27 no.5 São Paulo Sept./Oct. 2004

NOGUEIRA, N.M; SOARES, B.T.M; ANDRADE, A.B.N; SINGH, A.K. Comparative merits of conventional and miniaturized High Performance Liquid Chromatography. Rev. Bras. Farm. 92(2): 44-50, 2011

OLIVEIRA, A.S; Avaliação Química e Farmacológica do óleo das sementes de Carpotroche brasiliensis e sua aplicação na busca de compostos bioativos. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica. UFRJ. 2006

OLIVEIRA, A.S; LIMA, J. A; RZENDE, C. M; PINTO, A. C. Ácidos ciclopentênicos do óleo da sapucainha (*Carpotroche brasiliensis*Endl, Flacourtiaceae): o primeiro antileprótico usado no Brasil. Quim. Nova, Vol. 32, No. 1, 139-145, 2009

SKORUPA, L.A.; VIEIRA, R. F. Coleta de germoplasma de plantas medicinais e aromáticas. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. *Fundamentos* para coleta de germoplasma vegetal. Brasília: Embrapa – Cenargen, 2002.

THADEO, M. ANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE FLACOURTIACEAE (SLEUMER 1980). Tese apresentada aoPrograma de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de DoctorScientiae. UFV, Viçosa-MG 2007

VIEGAS JR, C; BOLZANI, V.S. OS PRODUTOS NATURAIS E A QUÍMICA MEDICINAL MODERNA.*Quim. Nova,* Vol. 29, No. 2, 326-337, 2006.

VIVEIROS, R. Química Verde no desenvolvimento de materiais de afinidade para purificação de princípios ativos farmacêuticos. QUÍMICA vol. 42, n.º 151, out–dez 2018.