

Andréia C. Barcelos (IC), Lauro E. S. Barata (PG), Alviclér Magalhães (PG)
alvicler@iqm.unicamp.br

Palavras chave: *Aniba roseadora Ducke*, *Aniba parviflora Ducke syn A fragrans*, HRMAS, CG-MS, metabólitos

INTRODUÇÃO

O Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) é uma árvore em extinção pertencente à flora amazônica, cujo óleo essencial é importante matéria-prima para a indústria de perfumaria. A busca pela exploração sustentável da floresta é extremamente importante, nesse cenário o óleo essencial de Macacaporanga (*Aniba parviflora* Ducke syn *A. fragrans*), espécie botanicamente vizinha ao Pau-rosa, tem grande potencial de se tornar matéria-prima para indústria. Devido a similaridade entre estas duas espécies e o tempo necessário para que estas plantas produzam óleo em quantidade e com qualidade necessária à indústria, ainda não é possível explorá-las através de seu plantio direto, restando somente as populações amazônicas a obtenção do óleo através da atividade extrativista. Este estudo propõe o desenvolvimento de um método analítico para diferenciar estas duas plantas o que pode contribuir para a seleção de plantas e a formação de viveiros e fazendas de cultivo.



Figura 1: Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke)



Figura 2: Macacaporanga (*Aniba parviflora* Ducke syn *A. fragrans*)

METODOLOGIA

Utilizou-se duas técnicas:

Cromatografia GC-MS (Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas) e RMN - ressonância magnética nuclear em sonda do tipo HRMAS.

CG-MS

A amostra foi preparada utilizando-se a técnica SPME (micro-extração em fase sólida) em que os processos de extração e pré-concentração ocorrem simultaneamente, com pouco manuseio da amostra.

Em seguida, identificou-se os principais componentes das folhas de ambas as espécies por cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas

RMN

Análise de RMN de ¹H permite a caracterização espectral de ambas as espécies.

A amostra foi macerada e adicionada à rotores de 12μL e analisada utilizando-se a técnica HRMAS que submete a amostra a sucessivas rotações em um ângulo mágico (54,7°) o que diminui as interações dipolares, típicas de amostras sólidas, gerando espectros em alta resolução.

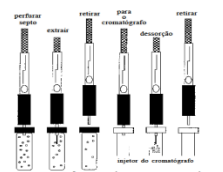


Figura 3: Exemplo do funcionamento da técnica, de preparação de amostra, SPME

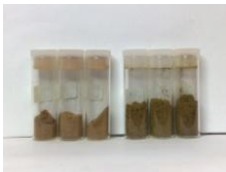


Figura 4: Exemplo das amostras maceradas utilizadas em RMN - esquerda Pau-rosa, a direita Macacaporanga.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através de RMN-HRMAS - determinação dos principais compostos das folhas de ambas as espécies:

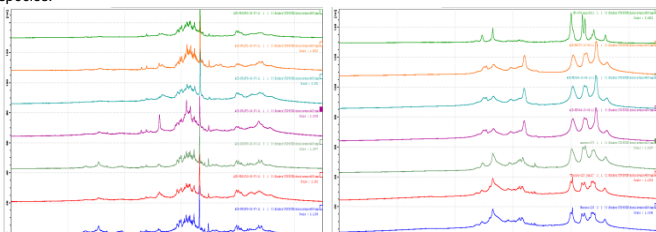


Figura 5: Espectros de Macacaporanga e Pau-rosa de diferentes amostras - espectros a esquerda é de folhas de pau-rosa e espectro a direita é de Macacaporanga. Espectrômetro Avance 400; tempo de pré-saturação 1,2s; sequência de pulso zgpr; rotação 10kHz; rotor HRMAS de 4 mm e 12 μL.

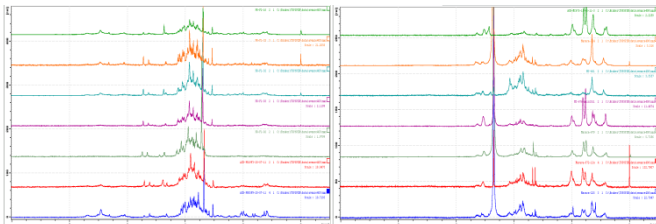


Figura 6: Espectros de Macacaporanga e Pau-rosa - espectro a esquerda é de folhas de pau-rosa e espectro a direita é de macacaporanga. Espectrômetro Avance 400; tempo de pré-saturação 1,2s; sequência de pulso cmcgcw.ca; rotação 10kHz; filtro de T2 realizado com 1000(ciclos)50us(-)2=100ms, rotor HRMAS de 4 mm e 12 μL.

No espectro da Figura 5 nota-se:

- Na região entre 1-2 ppm tem sinais atribuídos a grupos metilas distantes, pelo menos, duas ligações de funções oxigenadas. Região, também, caracterizada como uma região rica em lipídios - espectros das folhas de Macacaporanga há sinais mais intensos
- Sinais entre 2-4 ppm não observados no espectro de Macacaporanga sendo esta região típica de moléculas com grupos acetilados e funções do tipo ester.
- Diferentes perfis na região entre 4,5 e 5,5 ppm região típica de hidrogênios anoméricos de açúcares - espectro de Pau-rosa há uma quantidade maior de açúcares com cadeias ramificadas possuindo maior caráter adocicado. Enquanto, que na Macacaporanga sinais mais alargados indicam cadeias mais longas ou mesmo fragmentos de celulose.

Nos espectros da Figura 6, com o filtro de moléculas pesadas e grandes, observa-se que os açúcares presentes no Pau rosa possuem cadeias pequenas, já que o perfil espectral na região desses açúcares é bem resolvido e a grande maioria dos sinais se mantém após o uso do filtro de T2.

Através de CG-MS - determinação dos principais compostos das folhas de ambas as espécies:

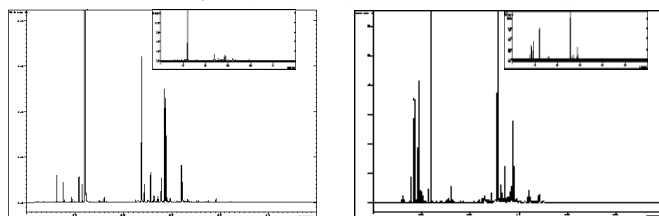


Figura 7: Cromatogramas das folhas de Pau-rosa (a esquerda) e Macacaporanga (a direita) - Temperatura do injetor 250°C; Temperatura da coluna 60-240°C a uma variação de 3°C/minuto; Vazão do gás de arraste 1ml/min; Split 1:50; cromatógrafo GC-MS Saturn 2100D equipado com uma coluna HP-5 MS (Agilent).

Através da fragmentação característica de cada compostos separado pelo cromatógrafo, obteve-se a identificação destes, com a comparação dos espectros de massas obtidos com os encontrados nas bibliotecas do espectrômetro de massas Saturn 2100D e do programa AMDS32. Calculou-se, também, o índice de Kovats para a comparação com os compostos encontrados nas bibliotecas para a obtenção de dados mais confiáveis.

Os principais constituintes encontrados nas folhas de Pau-rosa e Macacaporanga estão listados na tabela abaixo (tabela 1), os compostos em amarelo foram identificados em ambas as espécies:

COMPOSTO	MACACAPORANGA	PAU-ROSA
THIULENE <ALPHA>	1,0	1,0
CYMENE <ORTHO>	0,2	4,2
LIMONENE	0,0	1,7
SABINENE	10,0	0,7
ALFA-PINENE	2,7	0,8
BETA-PINENE	0,9	1,1
CARENE	0,9	1,2
PHELLANDRENE <ALPHA>	7,2	2,6
LINALOOL	36,0	80,0
TERPINEOL <ALPHA>	2,0	2,0
BENENE 2 <ORISOXYMATO 1>	2,3	2,2
LINALOOL OXIDE <CIS>	-	-
LINALOOL OXIDE <TRANS>	0,7	-
LINALYL ACETATE	20,0	-
CYCLOXENE	1,4	-
COPAENE <ALPHA>	1,0	3,2
CARYOPHYLLENE	0,4	64,2
MYRILENE <ALPHA>	1,0	0,8
SELINENE <ALPHA>	1,5	1,8
SELINENE <BETA>	2,2	2,5
MUUCALENE <GAMMA>	1,5	-
GERMACRENE	1,2	4,0
CADINENE <DELTA>	1,4	-
CARYOPHYLLENE OXIDE	0,9	-
EUCALYPTOL	1,5	-
GUAIENE	1,8	5,0

Tabela 1: Comparação entre os constituintes majoritários identificados nas folhas de Macacaporanga com as de Pau-rosa e a média de suas áreas percentual relativa nos cromatogramas.

CONCLUSÕES

Em ambas as técnicas utilizadas neste estudo, pode-se traçar um diferente perfil para diferenciar as plantas Macacaporanga e Pau-rosa. Com a análise qualitativa dos espectros de RMN-HRMAS obtidos verifica-se que ambas as árvores são distintas quimicamente, embora sejam parecidas botanicamente e confundidas a olho nu. Com as análises obtidas através da técnica SPME-CGMS foi possível identificar os constituintes majoritários dessas duas espécies. Os resultados obtidos estão condizentes com a observação cautelosa das amostras moídas que diferem-se em sua coloração, sendo as folhas de Macacaporanga moídas muito mais verdes que as folhas de Pau-rosa (caráter mais amarronzado). Este tipo de análise pode ser útil no dia a dia do manejo destas plantas, uma metodologia de baixo custo e fácil acesso.



Figura 8: Folhas secas de Macacaporanga e Pau-rosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SOUZA, R.C.Z.; Avaliação das Frações Voláteis de Espécies de Aniba por Microextração em Fase Sólida Acoplada a Cromatografia Gasosa (SPME-CG) e Cromatografia Gasosa bidimensional Abrrangente, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2011.
- LUPE, F. A.; Estudo da Composição Química de Óleos Essenciais de Plantas Aromáticas da Amazônia, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2007.
- MAGALHÃES, A.; Determinação da Estrutura Terciária de Peptídios Candidatos a Epidotos da Proteína Sm 14 de *Shistosoma mansoni* Via Ressonância Magnética Nuclear, Dissertação de Doutorado, Instituto de Química, Ufscar, 2002.
- <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html>. Acesso em 01 Agosto de 2011.