

2016 22

Q. 012.



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

**TRABALHO DE LICENCIATURA**

Tema:

*Cupressus funebris* 2016  
Estudo dos óleos essenciais da *Cupressus* por  
cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada  
à espectrometria de massas

AUTOR: Ananias Alberto Mavaieie

MAPUTO, NOVEMBRO 2001



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

**TRABALHO DE LICENCIATURA**

Tema:

Estudo dos óleos essenciais da cupressus por  
cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada  
à espectrometria de massas

AUTOR: Ananias Alberto Mavaicic

SUPERVISOR: DR. Felisberto Pedro Pagula

MAPUTO, NOVEMBRO 2001

U.E.M. DEPARTAMENTO DE QUÍMICA	
BIBLIOTECA	
R. E.....	06-TL.....
DATA.....	13.10.06.....
AQUISIÇÃO.....	07-enta.....
COTA.....	.....

### Dedicatórias

Dedico este trabalho aos meus pais Alberto Mavaieie e Avelina Nhancume, irmãos, demais parentes e amigos, por tudo quanto fizeram no delineamento dos meus horizontes.

A todos eles vai a minha mais profunda gratidão

### Dedicatórias

Á memória da minha saudosa avó, Sr<sup>a</sup> Neasse Machava "Nwamutombeni" pela energia despendida durante os seus anos de vida para que este trabalho fosse realizado. Que Deus lhe conceda um eterno descanso.

**Dedicatórias**

Aos meus padrinhos, prof. Doutor António Armindo Monjane e Gilda Monjane pela preocupação desinteressada e apoio moral muito precioso.

### Dedicatórias

Ao Exmo Senhor Professor Dr. Felisberto Pedro Pagula

- Pela metódica eficaz e excelente na transmissão dos conhecimentos.
- Pelos sacrifícios consentidos na procura de condições ótimas para que este trabalho alcançasse o nível científico desejado.
- Pela oportunidade ímpar que Deus me dera de o ter como supervisor do meu trabalho de licenciatura.

### Agradecimentos

Quero fazer menção nesta folha ao:

Meu supervisor Dr. Felisberto Pedro Pagula pela coordenação sábia das actividades.

Pela oportunidade que me foi dada de praticar o uso de técnicas modernas para a separação e identificação de compostos voláteis como a de GC-MS.

Pelas constantes recomendações e conselhos preciosos que sempre me deu.

Prof. Dr. Pavel Zakharov pelo testemunho que me conferiu ao longo dos anos que durou o meu curso e com destaque particular para este trabalho.

Pela disponibilidade e vontade de ajudar com que se notabilizou neste trabalho.

Dr. Rui Carlos da Maia pelo esforço distendido na procura de soluções dos diversos problemas que foram surgindo ao longo do curso.

Sr<sup>a</sup> Amélia Limone Furvela, pela ajuda por ela concedida na realização do trabalho laboratorial.

Sr Júlio Dungo, do departamento de Ciências Biológicas da U.E.M., pela ajuda prestada durante a recolha das amostras.

Este agradecimento é extensivo a todo o corpo docente do departamento de química da U.E.M., em particular para os docentes que contribuíram para a minha formação e para todos os que directa ou indirectamente despenderam as suas energias para a realização deste trabalho. A todos eles vai a minha mais profunda gratidão.

Pelo Autor

---

(Ananias Alberto Mavaieie)

Índice

Dedicatórias	i
Agradecimentos	v
Glossário	vii
Resumo	ix

**I. Parte Teórica**

1. Introdução	1
1.1 Terpenos	1
1.2 Classificação dos terpenos	1
1.3 Biossíntese dos isoprenóides	2
2. Objectivos do trabalho	4
3. Óleos essenciais	4
3.1 Importância e usos na medicina tradicional	5
3.2 Métodos de extracção dos óleos essenciais	5
3.2.1 Destilação a vapôr	6
3.2.2 Expressão	6
3.2.3 Extracção	6
3.2.4 Adsorção	7
3.3 Principais características da planta em estudo	7
4. A técnica de microextracção em SPME	7
4.1 Definição e procedimentos de análises em SPME	7
4.2 Técnicas de preparação de amostras em fase sólida	9
4.2.1 Métodos de extracção em fase gasosa	9
4.2.2 Extracção por membrana	10
4.2.3 Extracção por adsorção	10
4.3 Princípios básicos da microextracção em fase sólida	11
4.4 Métodos de extracção em SPME	12
4.5 Parâmetros experimentais que afectam a eficiência da extracção	13
4.6 O revestimento	13
5. Cromatografia	14



5.1 Princípio geral do método	14
5.2 A cromatografia gás-líquido	14
5.3 Selectividade e polaridade da fase estacionária	16
5.4 Comprimento e diâmetro da coluna	16
5.5 Interpretação dos resultados analíticos	16
5.5.1 Análise qualitativa	16
5.5.1.1 Comparação dos tempos de retenção	17
5.5.1.2 Curvas específicas dos tempos de retenção	17
5.5.1.3 Registo da amostra em duas colunas diferentes	18
5.5.1.4 Índice de Kovats	18
5.5.2 Análise quantitativa	20
5.6 Vantagens da cromatografia gasosa	22
5.7 Limitações da cromatografia gasosa	22
6. A espectrometria de massas	22
6.1 Funcionamento do espectrómetro de massas	22
6.2 Processamento de dados	26
6.3 Percentagem total da corrente dos iões	26
6.4 Isótopos	26
6.5 Poder de resolução	27
6.6 Iões metastáveis e sua origem	27
6.7 Vantagens da espectroscopia de massas	28
6.8 Desvantagens da espectroscopia de massas	28
6.7 A cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massas	28
6.8 Requisitos de acoplamento entre o GC e o MS	29

## II. Parte Experimental

7. Selecção da amostra	30
7.1 Colheita da amostra	30
7.2 Extracção dos óleos essenciais	31
7.3 Secagem dos óleos essenciais	33
7.4 Determinação da humidade	33

7.5 Determinação do índice de refração	33
7.6 Determinação da densidade	34
7.7 Análise do óleo pelo GC-MS	34
7.8 Condições de operação em GC-MS	34
7.9 Preparação dos padrões	35

### III. Resultados experimentais

8.1 Resultados dos tempos de retenção dos padrões usados em GC-MS	36
8.2 Resultados da extração das essências	37
8.3 Resultados da determinação dos índices de refração	38
8.4 Resultados da determinação da densidade	38
8.5 Tratamento estatístico de dados	39
9. Regularidades espectrais	42
9.1 Estabilidade do ião formado	42
9.2 O efeito estérico	42
9.3 Fragilidade das ligações dos átomos de carbono	42
10. Conclusões	42
11. recomendações	45
12. Bibliografia	46

Índice de figuras

Figura 1	8
Figura 2	9
Figura 3	11
Figura 4	11
Figura 5	12
Figura 6	15
Figura 7	23
Figura 8	25
Figura 9	29
Figura 10	32

Índice de tabelas

Tabela 1	1
Tabela 2	7
Tabela 3	36
Tabela 4	37
Tabela 5	37
Tabela 6	38
Tabela 7	38
Tabela 8	39

**Índice de gráficos**

Gráfico 1	18
Gráfico 2	20

Lista de abreviaturas

GC – Cromatografia gasosa

MS – Espectrometria de massas

SPME – Microextração em fase sólida

SFE- Extração por acção de fluido supercrítico

SPE – Extração em fase sólida

$\mu$ - Valor médio

t- Teste de significância “t” student

F- Teste “F” para comparar os desvios padrão

S- Desvio padrão

n- Número de réplicas

n-1 Graus de liberdade

DBWax- É um tipo de coluna utilizada frequentemente em GC

DB-5- É o outro tipo de coluna cromatográfica

CoA- Coenzima “A” -É a enzima específica necessária na biogénese de isoprenóides

$h_m$ - Altura gaussiana do-pico máximo

$w_h$ - largura da metade da altura

$M^+$ - Pico do ião molecular

$\sigma$ - Desvio padrão gaussiano

### Resumo

O presente trabalho ocupou-se no estudo de novas plantas produtoras de óleos essenciais, uma vez terminado o estudo sobre o eucalipto, a thuja e a juníperus. A *cupressus*, uma planta originária da Europa, poderá com muito mérito ser agrupada a outras plantas já estudadas pese embora as investigações sobre ela não tenham sido dadas por terminado porque esta planta para além dos monoterpenos que se fazem referência nas próximas páginas contém também sesquiterpenos tais como cariofileno, cadaleno, bisaboleno, e eudaleno.

A *cupressus* é uma amostra que contém quase todos os monoterpenóides podendo por isso ser considerada de base para as outras amostras.

O trabalho ganha a sua importância não somente pela escolha adequada da amostra mas também pela metódica excelente com que fora conduzido pelo supervisor na procura de diversas maneiras de identificar os componentes eluídos do GC. Algumas dessas formas incluem a espectrometria de massas, comparação com os padrões do GC, aplicabilidade dos índices de Kovats na identificação de compostos e na algumas vezes curvas de dados de retenção já disponíveis.

O estudo foi realizado em quatro etapas:

- 1- Estudo da composição do óleo em duas colunas (DBWax e DB-5);
- 2- Estudo da composição dos vapores não condensados a temperatura de 10 °C;
- 3- Estudo dos hidrolatos;
- 4- Estudo da composição dos vapores quando se utiliza a técnica de SPME.

Com este estudo concluiu-se que somente no óleo e nos vapores obtidos pela técnica de SPME apareciam os monoterpenos, enquanto os hidrolatos continham álcoois e os vapores continham cetonas e epóxidos.

Com o fim de testar a eficiência de extracção foi utilizado para além do hidrodestilador de Clevenger o extractor de Kissue e os resultados apontam para um rendimento eficiente quando se usa o extractor de Kissue. Isto significa que uma vez aplicado o teste "t"

student para comparar as médias dadas pelos dois aparelhos e o teste "F" para comparar os seus desvios padrão o resultado foram concordantes: a um nível de confiança de 95% há evidências significativas de que os rendimentos dados pelos dois aparelhos diferem significativamente.



## 1. Introdução

### 1.1 Terpenos

O termo terpeno originalmente designava a mistura de isómeros de hidrocarbonetos de fórmula molecular  $C_{10}H_{16}$ , ocorrendo em turpentina e em muitos óleos essenciais. Os terpenos formam o grupo de compostos que maioritariamente ocorrem em plantas, sendo poucos os terpenos isolados de outras fontes. Os mono- e sesquiterpenos são os constituintes principais dos óleos essenciais e são obtidos a partir da seiva e tecidos de certas plantas e árvores. Os di- e triterpenos são pouco voláteis em relação aos mono e sesquiterpenos e podem ser extraídos a partir das plantas e gomas da árvore e resina. Os tetraterpenos formam o grupo de compostos conhecidos por carotenóides que frequentemente são tratados como um grupo separado.

### 1.2 Classificação dos terpenos

Os terpenos são hidrocarbonetos de fórmula molecular  $(C_5H_8)_n$  onde "n" é usado como base de classificação. Assim para diferentes valores de "n" temos:

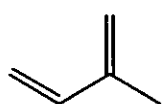
"n"	Classe	Fórmula Molecular
1	Hemiterpenos	$C_5H_8$
2	Monoterpenos	$C_{10}H_{16}$
3	Sesquiterpenos	$C_{15}H_{24}$
4	Diterpenos	$C_{20}H_{32}$
5	Sesterterpenos	$C_{25}H_{40}$
6	Triterpenos	$C_{30}H_{48}$
7	Tetraterpenos	$C_{40}H_{64}$
8	Politerpenos	$(C_5H_8)_n$

Tabela 1: classificação dos terpenos

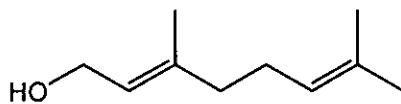
Embora o termo terpeno esteja ainda em uso há uma tendência de substituí-lo por terpenóide, isto se deve ao facto de o nome terpeno não ser conveniente para abranger os derivados oxigenados de cada classe que são principalmente os álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres que também ocorrem naturalmente.

Wallach (1887) verificou experimentalmente que a decomposição térmica de quase todos os terpenóides dá isopreno como um dos produtos, isto levou-o a sugerir que a estrutura básica de

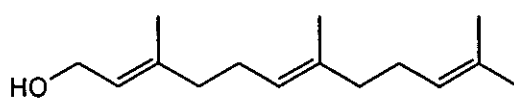
quase todos os terpenóides é formada por unidades de isopreno. Esta hipótese é conhecida actualmente como regra de isopreno. Assim, a divisibilidade em unidades de isopreno pode ser entendida como condição necessária a ser satisfeita pela estrutura das plantas que sintetizam os terpenóides.



isopreno  
(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)



geraniol  
(C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O)



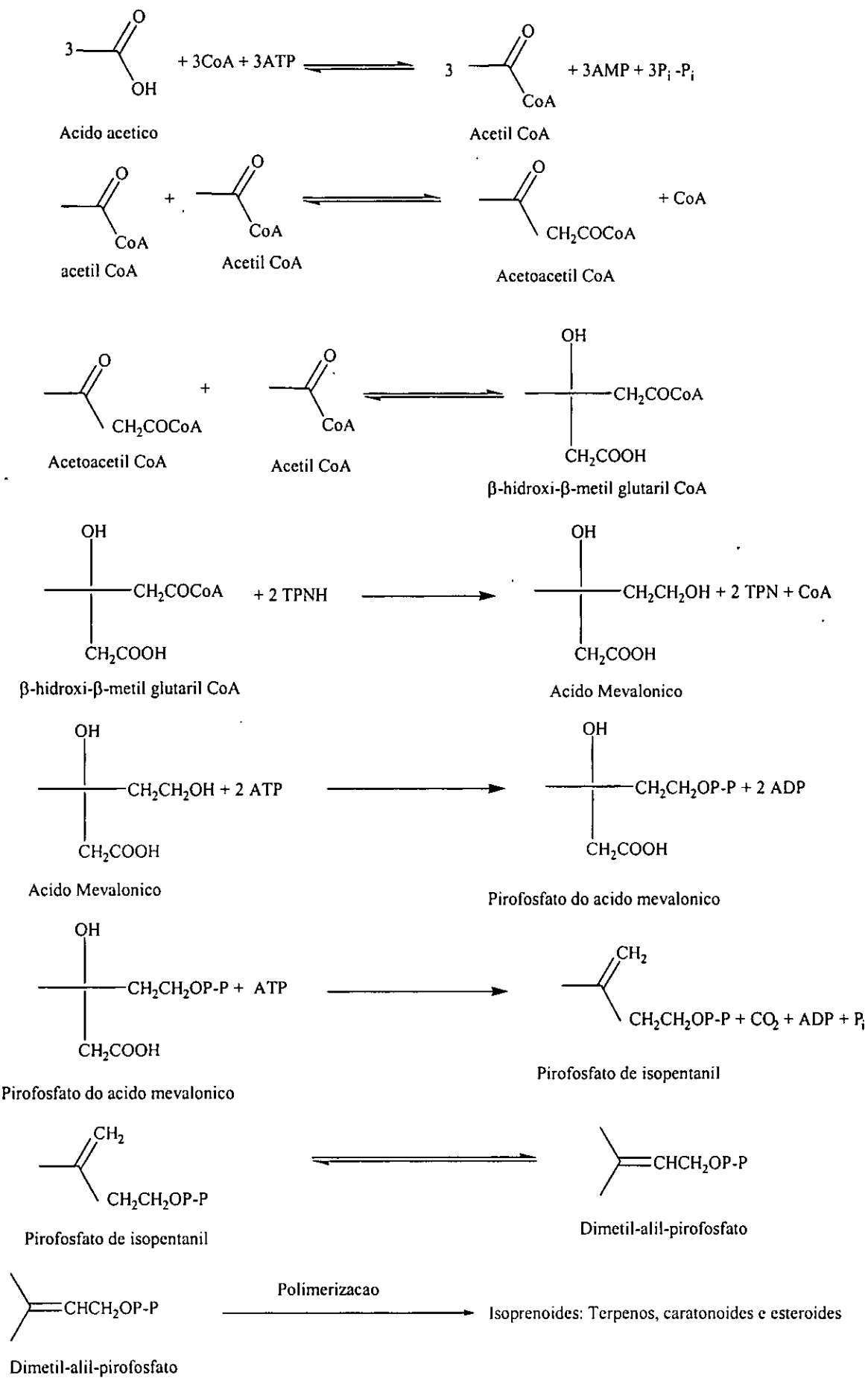
farnesol  
(C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O)

Ingold (1925) observou que os terpenóides naturais estão unidos por ligação cabeça-cauda e, a divisibilidade em unidades de isopreno acoplada à ligação cabeça-cauda é denominada regra especial de isopreno [12].

### 1.3 Biosíntese de isoprenóides

O princípio básico da biogénese de isoprenóides é o facto de que os átomos de carbono que constituem o isopreno derivam do ácido acético. O ácido acético é também fonte de esteróides segundo a demonstração de Bloch (1951). Este, estabeleceu também a posição ocupada pelos grupos metílico e carboxílico na cadeia carbónica do isoprenóide. Dos cinco átomos do monómero de isopreno, dois são derivados do grupo carboxílico e três do grupo metílico do ácido acético. Os mecanismos pelos quais os dois átomos de carbono da molécula de acetato são convertidos para cinco átomos da molécula de isopreno envolvem a condensação de três moléculas do ácido acético com a eliminação de um átomo de carbono. As etapas pelas quais as três moléculas de ácido acético são ligadas numa estrutura de cadeia ramificada envolvem a transferência do acil coenzima "A". A elucidação desta etapa não era possível antes da elucidação da química de CoA em 1945.

As plantas contêm enzimas que executam duas funções importantes: A formação de acetil CoA activo e a condução das sucessivas reacções de condensação de acetil CoA. Quando duas moléculas de acetil CoA condensam-se formam acetoacetil CoA e este por sua vez dá hidroximetil-glutaril CoA quando reage com mais uma molécula de acetil CoA conforme se pode ver nas equações de reacções deste processo.



## 2. Objectivos do trabalho

### 2.1 Objectivo geral

- ❖ Estudo da composição química dos hidrocarbonetos monoterpénicos do óleo da *Cupressus Funebres*.

### 2.2 Objectivos específicos

- ❖ Consolidar os conhecimentos sobre a cromatografia gasosa e as suas aplicações.
- ❖ Desenvolver um método simples de identificação dos monoterpénóides, utilizando o GC-MS.
- ❖ Aplicação da espectrometria de massas como método para assegurar a fiabilidade dos resultados obtidos a partir da comparação dos tempos de retenção em cromatografia gasosa dos diferentes picos do cromatograma do óleo da *Cupressus Funebres*.

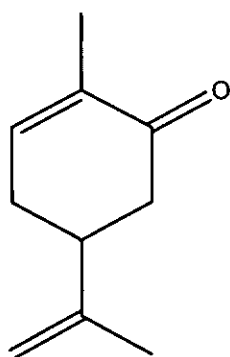
## 3. Os óleos essenciais

Os óleos essenciais ou essências, são líquidos oleosos voláteis de origem vegetal provenientes de várias espécies. Definem-se por um conjunto de propriedades de entre as quais se destacam o cheiro e sabor aromáticos em geral agradáveis que se revelam nas plantas de onde provêm. A volatilidade, a insolubilidade na água, a solubilidade em compostos orgânicos e a mancha translúcida mas não persistente que deixam no papel são igualmente propriedades que os caracterizam.

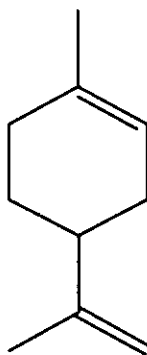
Chamam-se fármacos aromáticos quando estas essências apresentam propriedades terapêuticas. De igual modo são considerados fármacos aromáticos as plantas aromáticas de onde provêm.

Os óleos essenciais são formados por compostos voláteis de natureza química diversa. Compostos naturais como hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos, terpénicos e seus derivados, álcoois, fenóis, éteres fenólicos, ésteres, aldeídos, cetonas e óxidos são constituintes mais abundantes [12].

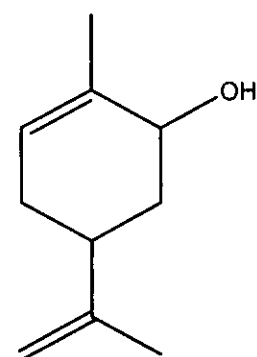
Alguns dos constituintes mais comuns dos óleos essenciais



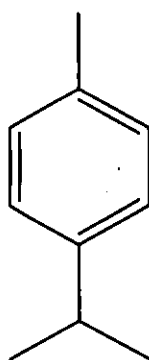
Carvona



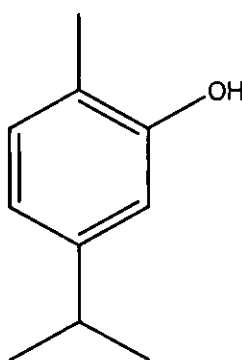
Limoneno



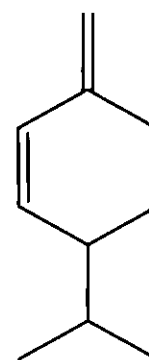
Carveol



P-cimeno



carvacrol

 $\beta$ -Felandreno

### 3.1 Importância e usos na medicina tradicional

Os óleos essenciais são importantes porque contêm compostos orgânicos biologicamente activos capazes de criar efeitos fisiológicos quando administrados a organismos vivos. A sua aplicação têm merecido especial atenção e o conhecimento sobre as utilidades terapêuticas dos mesmos estão sendo fixadas e transmitidas dia após dia em certas áreas da sua aplicação, a título de exemplo é a sua aplicabilidade na medicina como analgésico, cicatrizante, bactericida, relaxantes entre outras funções.

### 3.2 Métodos de obtenção dos óleos essenciais

Em geral existem quatro métodos de extracção dos óleos essenciais:

- (i) Destilação a vapor
- (ii) Expressão
- (iii) Extracção por meio de solventes voláteis
- (iv) Métodos de adsorção em gorduras purificadas (enfleurage)

O método (i) é largamente utilizado, a planta é macerada e a seguir destilado a vapor. Se o composto decompõe-se sob estas condições pode ser extraído com gasolina suave a 50 °C e o solvente é então removido por destilação a pressão reduzida.

### 3.2.1 Destilação a vapor

A destilação por arraste de vapor de água é um processo de separação e purificação de compostos orgânicos por volatilização. As substâncias a serem separadas devem ser insolúveis ou pouco solúveis em água. No destilado, o composto separa-se da água por ser insolúvel ficando em cima ou em baixo desta de acordo com a sua densidade. Para separar substâncias que existem em menor quantidade numa mistura, a água pode ser adicionada a amostra num balão e aquecê-lo directamente. Esta destilação possui algumas vantagens de entre as quais se salientam:

- Alguns compostos altamente voláteis decompõem-se ao atingir os seus pontos de ebulição. Para evitar a decomposição desses compostos podem ser separados com eficiência usando a destilação por arraste com vapor de água.
- O método pode ser usado para separar impurezas de solventes orgânicos altamente voláteis.

Os cuidados a ter ao trabalhar com este método devem incluir tubagem e vidraria seguras para evitar possíveis explosões, e evitar que os vapores não se acumulem e obturem o condensador, podendo causar explosão.

### 3.2.2 Expressão

A expressão é o método recomendado quando o fim é extrair essências de citrinos.

### 3.2.3 Extracção

É recomendada para casos de óleos menos voláteis ou que se decompõem à temperatura de vapor. O solvente frequentemente usado para este método é o éter de petróleo.

### 3.2.4 Adsorção

Neste método, os óleos essenciais são obtidos usualmente contendo muitos terpenóides e depois são separados por destilação fraccionada. Os hidrocarbonetos monoterpénicos destilam-se primeiro e são seguidos por seus derivados oxigenados.

### 3.3 Principais características da planta em estudo

Nome científico	Cupressus Funebri
Família	Pinaceae
Tipo e características	É uma árvore de aproximadamente 5 a 6 metros de altura quando jovem e quando adulta pode atingir no máximo 12 metros.
Origem	França
Cultura	Planta cultivada
Localização	Maputo
Local de Colheita	Namaacha a 2 Km de cascata
Condições climáticas do solo	Solo relativamente pobre (argiloso)
Parte da planta usada	Folhas
Principais compostos	$\alpha$ -pineno, $\Delta^3$ -careno e terpinoleno.
Aplicações	Aplica-se a essência desta planta para curar hemorragia, asma, coqueluche, tosse, gripe, doenças de fígado, fluxo irregular de menstruação, hemorróides, varizes, celulite e menopausa.

Tabela 2: principais características da planta em estudo

## 4. A técnica de microextração em fase sólida (SPME)

### 4.1 Definição e procedimentos de análises em SPME

Esta técnica consiste em submeter a amostra sólida numa pequena placa de aquecimento onde é

posteriormente aquecida e os vapores resultantes desta operação são recolhidos por meio de uma fibra com o revestimento adequado para o efeito e depois analisados num GC.

Os procedimentos analíticos tem várias etapas: recolha de amostra, preparação da amostra, separação, quantificação, evolução estatística e decisão. A etapa da recolha de amostra deve decidir sobre o local da colheita da amostra que satisfaça convenientemente o objecto de estudo e escolher o método ideal para a obtenção de quantidades aceitáveis das mesmas. A preparação da amostra é necessária para isolar componentes de interesse a partir da matriz da amostra. Esta pode incluir a lavagem da amostra o que pode trazer ao analito o nível de concentração desejável. A etapa subsequente contempla a separação e quantificação dos compostos eluídos e a identificação pode ser feita com base nos tempos de retenção combinados com a detecção selectiva.

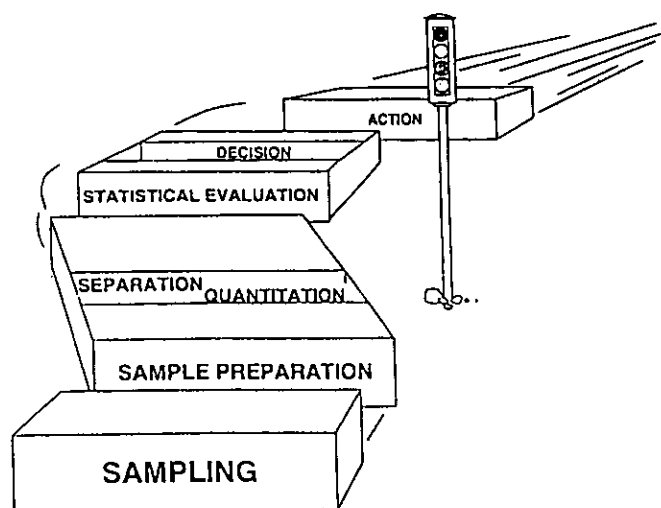


Figura 1. Etapas analíticas da microextração em fase sólida

A avaliação estatística de resultados fornece um valor calculado da concentração do composto na amostra em estudo. Os dados obtidos irão permitir com que se tome certas decisões sobre a continuidade ou não das investigações. É importante salientar, como ilustrado na figura 1, que as etapas analíticas ocorrem sucessivamente e a etapa subsequente não pode iniciar antes que a anterior termine, por essa razão a etapa mais lenta determina a velocidade de todo o processo.

Este método acoplado às tecnologias modernas torna-se um instrumento ideal para melhorar a eficiência, selectividade e aplicabilidade para vários compostos e matrizes.



## 4.2 Técnicas de preparação de amostras em fase sólida.

Existem três métodos de preparação de amostras em fase sólida: método de extracção em fase gasosa, métodos de extracção por membrana e extracção por adsorção.

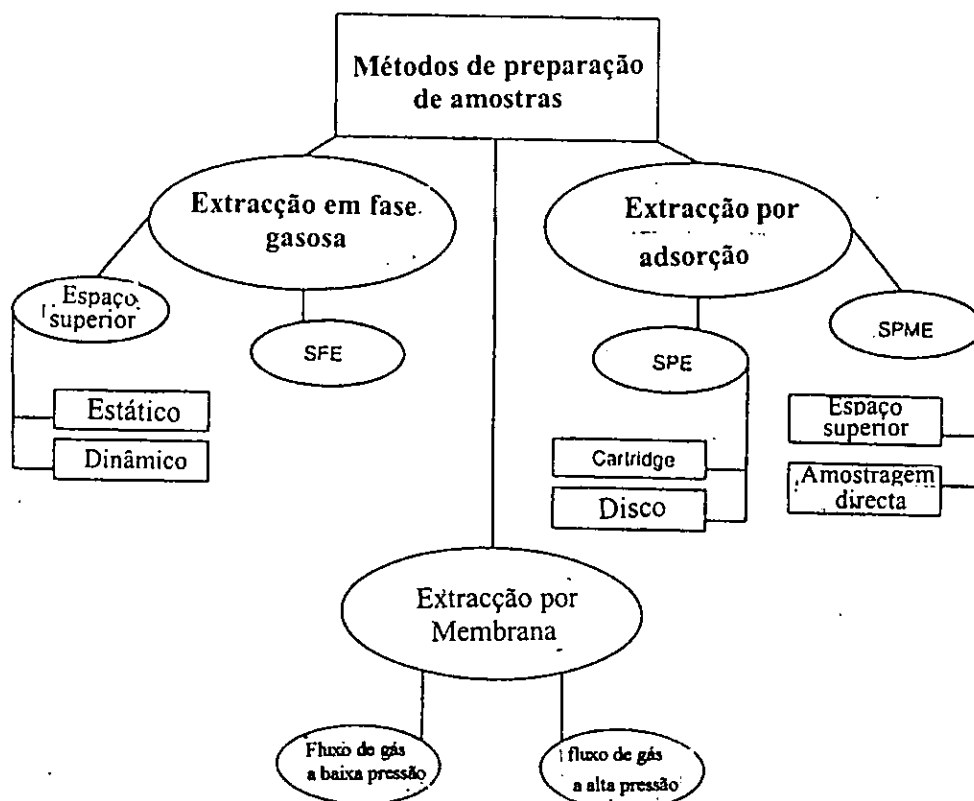


Figura 2: tipos de extracção em SPME

### 4.2.1 Método de extracção em fase gasosa

Os métodos de preparação de amostra em fase gasosa tem como característica fundamental a partição do analito na fase gasosa. Durante a partição os compostos não voláteis de alto peso molecular são eliminados o que evita a contaminação da coluna, tornando o método mais eficiente. A amostragem através do espaço superior estático é provavelmente a técnica mais simples e mais aplicada na preparação das amostras em SPME. A quantidade do analito transferido é proporcional

ao volume da fase gasosa e, a constante de Henry e a concentração do analito são tidos como estando em equilíbrio com a amostra. Esta técnica é aplicada para analisar compostos orgânicos voláteis. A amostragem através do espaço superior dinâmico envolve muitos passos complexos sendo por isso pouco aplicado.

O outro método acoplada à extracção em fase gasosa usa líquido comprimido como por exemplo dióxido de carbono como fase de extracção que é capaz de remover compostos de baixa volatilidade à temperatura ambiente. Esta técnica é conhecida por extracção por acção do fluido super-crítico (SFE).

#### **4.2.2 Extracção por membrana**

A extracção por membrana consiste em dois processos: extracção do analito a partir da matriz da amostra e extracção do analito a partir da membrana por isolar a fase.

#### **4.2.3 Extracção por adsorção**

A adsorção é muito usada para extrair compostos orgânicos a partir de várias matrizes incluindo água, ar e solo. O adsorvente com grande afinidade irá reter e concentrar todos os compostos orgânicos presentes em amostras aquosas diluídas ou gasosas. Uma das técnicas largamente usada em adsorção é a extracção em fase sólida (SPE). Nesta técnica a matriz líquida é passada através do tubo de polietileno contendo o adsorvente disperso no suporte particular para extrair o analito juntamente com os interferentes. Usualmente os solventes são seleccionados de tal forma que os interferentes sejam removidos primeiro e o outro solvente é utilizado para remover o analito do tubo. As características de (SPE) podem ser equiparadas com as de extracção por solvente. Esta técnica é simples e usa poucas quantidades de solvente. É limitada para compostos semi-voláteis com temperaturas de ebulição substancialmente acima da temperatura do solvente de desorção.

A outra técnica utilizada em extracção por adsorção é a de SPME que usa duas etapas a seguir mencionadas: partição do analito entre o revestimento da fibra e a matriz da amostra e a transferência desta para instrumento analítico como por exemplo o GC.

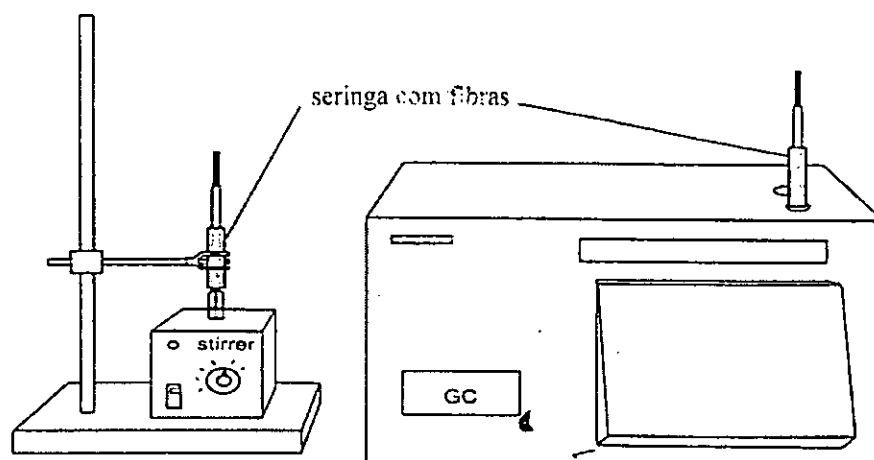


Figura 3: a adsorção a acompanhada por um ensaio analítico em GC.

#### 4.3 Princípios básicos da microextração em fase sólida

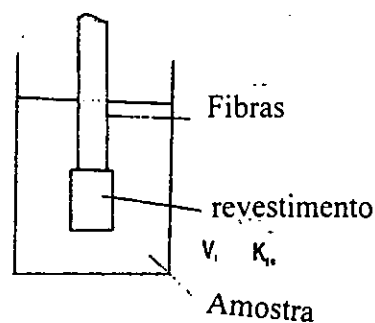


Figura 4: A extração em SPME

O princípio da operação deste método é a partição do analito entre a matriz da amostra e a fase extraída. O transporte do analito a partir da amostra para a superfície coberta começa logo que as fibras cobertas forem colocadas em contacto com a amostra conforme se pode ver na figura 4. A extração por SPME é considerada completa quando a concentração do analito atinge um equilíbrio de distribuição entre a matriz da amostra e a superfície coberta de fibras. Na prática, isto significa que uma vez atingido o equilíbrio, a quantidade extraída é constante dentro dos intervalos do erro experimental e é independente do tempo de extração aditivo. As condições de equilíbrio podem ser descritas como sendo:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_o}{K_{fs} V_f + V_s} \quad (1)$$

$n$  é a quantidade extraída para o revestimento.

$K_{fs}$  é a razão entre a parte extraída para o revestimento e a parte remanescente.

$V_f$  é o volume de revestimento da fibra.

$V_s$  é o volume da amostra.

$C_o$  é a concentração inicial de um dado anólito na amostra

A equação (1) mostra que a matriz da amostra pode ser representada como fase homogénea simples e que nenhum espaço presente no sistema pode ser modificado para explicar a existência de outros componentes na matriz, considerando para tal o volume de cada fase e a constante de distribuição apropriada.

A extracção pode ser interrompida e a fibra ser analisada antes do equilíbrio. A simplicidade e a conveniência da operação faz com que a técnica de SPME seja eficiente. A equação (1) mostra que existe uma relação directamente proporcional entre a concentração da amostra e a quantidade do analito extraído. Esta é a base de quantificação do analito.

#### 4.4 Métodos de extracção em SPME

Existem três métodos básicos de extracção aplicáveis em SPME: a extracção directa, a extracção por configuração do espaço superior e a aproximação da membrana protegida. Para realizar a extracção rápida é necessário agitar regularmente para transportar maior parte do analito da solução para a proximidade da fibra.

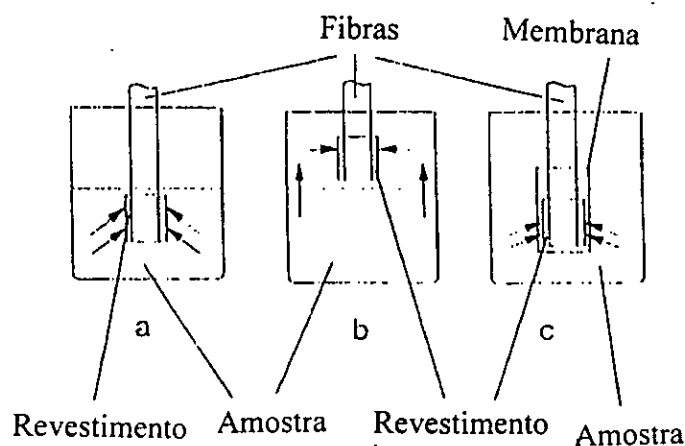


Figura 5: diferentes métodos de extracção aplicadas em SPME

Para amostras gasosas, a convenção natural do ar é suficiente para facilitar o equilíbrio rápido. Para as matrizes aquosas recomenda-se o uso de técnicas de agitação muito eficientes tais como fluxo de agitação e agitação em aparelhos ultra-sónicos.

Em configuração do espaço superior o analito precisa de ser transportado através da barreira do ar antes de atingir a superfície revestida. Esta modificação serve para proteger a fibra de compostos com altos pesos moleculares e outros interferentes não voláteis presentes na matriz da amostra como materiais húmidos e proteínas. Este método também permite a modificação da matriz, sem danificar as fibras. A escolha do método de extracção tem um impacto significativo na cinética de extracção.

Os tempos de equilíbrio são menores em configuração do espaço superior do que em extracção directa sob as mesmas condições de operação, isto é explicado por dois factores: a presença da porção substancial do analito antes da extracção e os coeficientes de difusão na fase gasosa são quatro vezes maiores do que os de difusão em líquido.

#### **4.5 Parâmetros experimentais que afectam a eficiência da extracção**

A concentração dos sais e o controle do PH podem ser usados para testar a eficiência de extracção. O princípio é similar ao de extracção por solvente. Um sal apropriado ou tampão é adicionado directamente à amostra sem precisar de nenhum instrumento específico. A temperatura é o outro parâmetro muito importante para a optimização da extracção. A elevadas temperaturas o analito pode dissociar-se efectivamente dando outro analito não activo. O coeficiente de distribuição decresce com o aumento da temperatura, resultando na diminuição da quantidade do analito extraído no equilíbrio. Para prevenir a perda de sensibilidade, o revestimento pode ser arrefecido ao mesmo tempo que a amostra é aquecida.

#### **4.6 O revestimento**

A equação (1) indica que a eficiência do processo de extracção é dependente da constante de distribuição  $K_{fs}$ . Este é o parâmetro que descreve propriedades do revestimento e a sua selectividade para com o analito e em função de outros componentes na matriz. Conforme se pode observar na equação (1), quanto mais espesso for o revestimento maior será o tempo de extracção e menor será a sensibilidade. Assim, é importante utilizar o revestimento apropriado para uma dada aplicação [19].

## 5. Cromatografia

### 5.1 Princípio geral do método

A cromatografia é uma técnica usada para separar misturas de compostos por uso da distribuição diferencial dos componentes da mistura entre duas fases, sendo uma estacionária e a outra móvel. As diferenças entre os componentes a eluir podem ser expressos como distâncias relativas percorridas em períodos de tempo fixo com a fase móvel (valores de  $R_f$ ) ou tempos relativos que os componentes levam a percorrerem uma distância constante (tempos de retenção).

$$R_f = \frac{\text{distância do componente em relação a origem}}{\text{distância da frente do solvente em relação a origem}} \quad (2)$$

Os tempos de retenção e os valores de  $R_f$  são constantes para os mesmos compostos sob as mesmas condições de análise cromatográfica [6] [7] e [8].

Para este trabalho foi utilizada a cromatografia gas-líquido e a gás-líquido acoplada à espectrometria de massas.

### 5.2 Cromatografia gás-líquido

Este método cromatográfico foi usado em particular para este trabalho. A fase móvel é um gás quimicamente inerte em relação a fase estacionária e aos componentes da mistura em análise, sendo estes transportados por ela na fase gasosa [4].

Uma pequena amostra de mistura volátil cuja separação se pretende é introduzida na extremidade da coluna e sob condições isotérmicas faz-se passar uma corrente de gás através desta. A este gás transportador denomina-se eluente e os diversos componentes da mistura gasosa vão ser transportados por este e eluídos de acordo com as afinidades para com a fase estacionária. A velocidade e eficiência da separação, bem como a sua reprodutibilidade, são dependentes da temperatura, razão pela qual as colunas se encontram montadas num forno de precisão de temperatura rigorosamente controlada. À saída das colunas encontram-se os detectores que respondem aos compostos que delas emergem produzindo um sinal eléctrico que pode ser amplificado e registado. A essas respostas dadas pelo registador constituem o cromatograma e a

eficácia da separação pode ser encontrada mediante um conjunto de factores de entre os quais se destacam a natureza e a quantidade da fase estacionária, o comprimento e diâmetro da coluna, a temperatura da coluna, fluxo do gás transportador e as propriedades dos componentes da mistura por separar. As variações em cromatografia gasosa atentam fundamentalmente a polaridade e a volatilidade dos componentes da amostra.

Para além das condições isotérmicas, a amostra pode ser também estudada usando gradiente de temperatura ou programador linear de temperatura. Neste método a temperatura é inversamente proporcional à resolução [4].

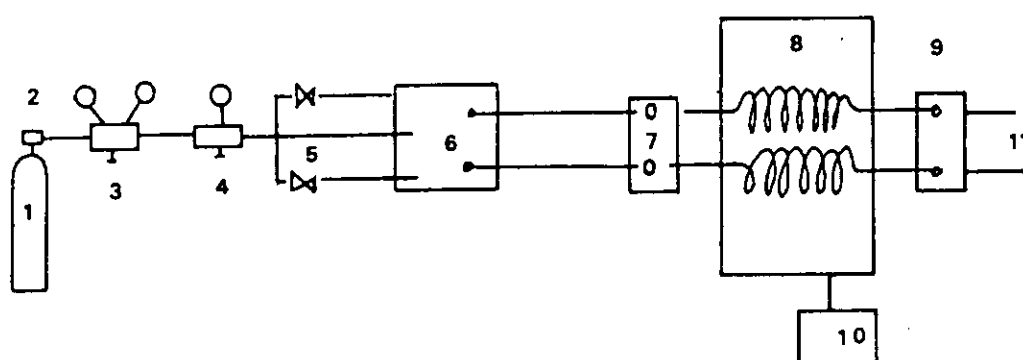


Figura 6: Esquema do cromatógrafo de gás

- |                           |                                    |
|---------------------------|------------------------------------|
| 1. Tubo de gás de arraste | 7. Injetor                         |
| 2. Válvula                | 8. Colunas e Forno                 |
| 3. Manómetro              | 9. Detector                        |
| 4. Manómetro              | 10. Programador                    |
| 5. Controlador de fluxo   | 11. Saída do sinal para o registor |
| 6. Controlador de fluxo   |                                    |

A eficiência da separação é alcançada graças ao bom desempenho da coluna cromatográfica e vários são os factores que afectam o bom funcionamento da coluna. Por isso, para a selecção da coluna devem ser tomadas em consideração os seguintes aspectos: o comprimento, a espessura, o diâmetro, o material e a capacidade.

### 5.3 Selectividade e polaridade da fase estacionária

As colunas são seleccionadas com base na sua polaridade e esta é determinada pela estrutura do polímero que funciona como fase estacionária. A selectividade pode ser explicada como sendo a habilidade da fase estacionária para diferenciar dois compostos que emergem na coluna de acordo com as suas propriedades químicas. Se houver diferenças típicas nas propriedades dos dois compostos cuja separação se pretende, então a separação irá ocorrer uma vez que um dos dois compostos irá aderir à fase estacionária enquanto o outro à fase móvel. Caso não exista esta diferença de aderência então estaremos perante de uma co-eluição. De salientar que os compostos podem ter estruturas ou propriedades diferentes mas se a fase estacionária não os distingue a co-eluição terá lugar.

### 5.4 Comprimento e diâmetro da coluna

A resolução é uma função da raiz quadrada do comprimento da coluna. Isto significa que duplicando a resolução entre dois picos sem alterar outro parâmetro operacional requiere o aumento do comprimento da coluna. Na prática, a remoção de um metro dos trinta disponíveis significa o decréscimo da resolução em 1,7%. Por outro lado o diâmetro da coluna tem um impacto significativo na eficiência, características da retenção e capacidade da coluna. Colunas com menor diâmetro são mais eficientes do que as com maior diâmetro.

### 5.5 Interpretação dos resultados analíticos

Os estudos em cromatografia tem uma determinada finalidade: a análise qualitativa ou a quantitativa.

#### 5.5.1 Análise qualitativa

A essência do gás cromatógrafo é principalmente o processo de separação. Contudo o cromatograma obtido pode apresentar erros quando dois componentes que emergem na coluna ao mesmo tempo resultar num único pico, o que tem sido frequente. Isto deve-se à dificuldade em estabelecer o tempo correspondente para a eluição de um pico cromatográfico de um componente. A investigação das tabelas ou gráficos de dados dos tempos de retenção pode ajudar a encontrar



uma solução para este problema, não só como também o registo da amostra numa outra coluna com polaridade diferente da primeira, sabido que é pouco provável encontrar picos sobrepostos nas duas colunas.

Todavia, a análise qualitativa baseia-se em 4 estágios que são:

- Comparação dos tempos de retenção.
- Curvas específicas dos tempos de retenção.
- Registo de amostras em duas colunas diferentes.
- Índice de retenção ou de Kovats.

#### **5.5.1.1 Comparação dos tempos de retenção**

A comparação dos tempos de retenção pode parecer o método mais fácil, pois o tempo de retenção de uma substância é específico para uma dada coluna. Porém, há limitações no uso dos valores absolutos para a comparação, essas limitações estão relacionadas com a reprodutibilidade dos dados depender por um lado da reprodutibilidade da própria coluna e por outro das condições analíticas. Desta feita, o tempo de retenção ou o tempo de retenção corrigido são utilizados raramente para efeitos de identificação. O volume de retenção, o volume de retenção corrigido e o volume de retenção específico são pouco dependentes das condições analíticas em comparação com os tempos de retenção.

#### **5.5.1.2 Curvas específicas dos tempos de retenção**

Os valores de retenção das substâncias que pertencem a uma série homóloga podem ser semelhantes por causa da semelhança estrutural ou de propriedades físicas. Na maior parte dos casos, essas curvas têm a forma linear e se identificarmos um pico numa mistura de multi-componentes, outros picos pertencendo a mesma amostra na série homóloga podem ser deduzidos para os respectivos componentes.

Embora as curvas da série homóloga são preparadas para muitos valores físicos, dois tipos de curvas são usadas para a identificação do componente: curvas que revelam dados de retenção em função do número de carbonos e curvas que revelam dados de retenção em função dos pontos de ebulição.

James e Martin demonstraram experimentalmente que a curva do logaritmo do tempo de retenção ajustado em função do número de carbono na molécula é linear para dada série homóloga. Este método é desvantajoso porque a curva só é válida para uma determinada temperatura fixa.

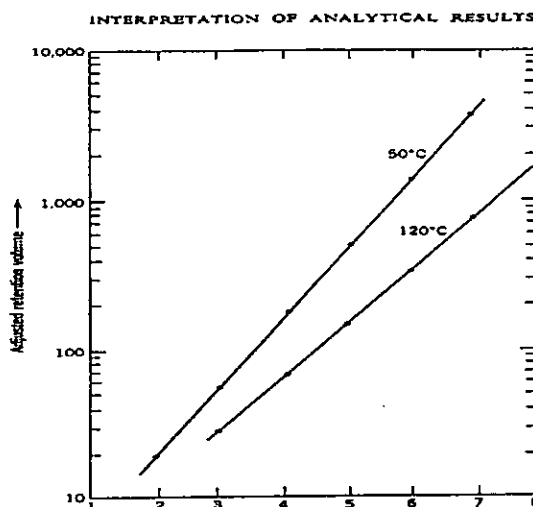


Gráfico 1: Curvas de retenção em função dos seus pontos de ebulição

As curvas largamente usadas mostram os logaritmos dos valores de retenção em função dos pontos de ebulição dos componentes pertencendo a série homóloga. Com essas curvas demonstra-se uma das mais importantes regras em cromatografia gasosa: a ordem da eluição em coluna apolar ou ligeiramente polar é principalmente dependente dos pontos de ebulição dos componentes da amostra e a estrutura química é tida de pouca importância, contrariamente ao que acontece numa coluna polar.

#### 5.5.1.3 Registo da amostra em duas colunas diferentes

O registo de amostra em duas colunas de polaridades diferentes é muito útil para a identificação qualitativa do componente. James demonstrou que no caso em que temos dois picos sobrepostos numa coluna estes poderão ser perfeitamente resolvidos numa outra de polaridade diferente da primeira.

#### 5.5.1.4 Índice de Kovats

Define-se índice de Kovats ou índice de retenção ou ainda índice de metileno de uma substância como sendo o logaritmo do seu valor de retenção relativo, calculado por interpolação a partir dos

valores de retenção em escala logarítmica correspondentes à série homóloga dos n-alcenos. Estes possuem, por definição, índices de Kovats fixos para qualquer que seja o sistema cromatográfico utilizado e dado por:

$$I_{(C_nH_{2n+2})} = n * 100 \quad (6)$$

Onde:

I- é índice de metileno ou índice de Kovats

n- é o número de carbonos na série homóloga dos n-alcenos

A introdução dos índices de retenção de Kovats na avaliação quantitativa dos cromatogramas apresenta várias vantagens em relação a outros sistemas sendo a mais importante o facto de tomar em consideração que apenas o tempo de retenção corrigido é característico de cada substância e a determinação do tempo morto é de fácil medição e dá valores exactos que permitem estabelecer relações comparativas fidedignas.

A escala de índices de retenção de Kovats apresenta algumas características de interesse tais como:

- Numa série homóloga dos n-alcenos, o índice de Kovats aumenta em 100 unidades por cada grupo metilénico.
- Se a diferença entre os pontos de ebulição de duas substâncias é de T graus Celsius, a diferença entre os respectivos índices de retenção será de 5 x T.
- Ao trocar uma fase estacionária apolar por uma polar, os valores de índices de Kovats de substâncias não polares não se modificam. Porém, os valores de índices de Kovats das substâncias polares são fortemente alterados.
- Variações de temperatura têm fraca influência nos valores de índices de Kovats (cerca de 2 a 6 unidades em cada aumento de 10 °C).
- Se duas substâncias simétricas R-X-R e R'-X-R' tem respectivamente índices de Kovats  $I_r$  e  $I_{r'}$ , o índice de retenção do composto assimétrico R-X-R' é dado por

$$\frac{I_r + I_{r'}}{2} \quad (7)$$

O cálculo dos índices de retenção (pela equação 6) pode ser feita por interpolação gráfica. Para tal, a amostra é primeiramente analisada em condições isotérmicas e a análise é repetida após a adição à amostra de 4 a 5 n-alcenos escolhidos de tal modo que todos os componentes do amostra sejam eluídos entre o primeiro e o último alceno da série. Deste modo se evita que picos correspondentes a substâncias da amostra sejam escondidos sob os de hidrocarbonetos correspondentes e os cálculos

de índice de retenção se tenham de fazer por extrapolação que, embora possível, está sujeito a erros. A análise deve ser conduzida em condições tais que os picos correspondentes aos alcanos de referência sejam perfeitamente simétricos, de tal maneira que a posição do seu vértice possa ser medida com exactidão. O gráfico é construído como se mostra na figura abaixo, a partir dos logaritmos dos valores de retenção e do número de átomos de carbono dos alcanos correspondentes multiplicado por 100.

$$I = \frac{100n(\log t_r(A) - \log t_r(X))}{\log t_r(Y) - \log t_r(X)} + X \quad (8)$$

Onde:  $t_r(A)$  é o tempo de retenção da substância "A"

$t_r(X)$  é o tempo de retenção do alcano normal  $C_xH_{2x+2}$

$t_r(Y)$  é o tempo de retenção do alcano normal  $C_yH_{2y+2}$

$n$  é a diferença entre o número de átomos de carbonos dos alcanos  $C_xH_{2x+2}$  e  $C_yH_{2y+2}$

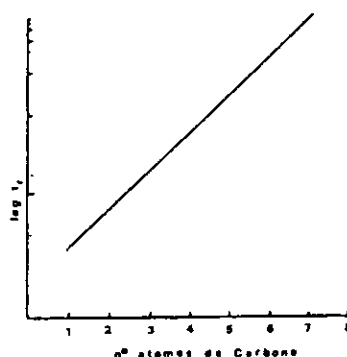


Gráfico 2: determinação dos índices de Kovats na série dos n-alcanos

### 5.5.2 Análise quantitativa

A experiência mostra que a área sob o pico cromatográfico ( $A_i$ ) é proporcional a quantidade de substância presente ( $C_i$ ) no gás transportador.

$$A_i = f_i(C_i) \quad (9)$$

Isto significa que o cálculo adequado da concentração requiere o conhecimento da área do pico cromatográfico e do factor de proporcionalidade ( $f_i$ ). O cálculo da área do pico pode ser determinado por um dos seguintes métodos:

1. Integradores automáticos.
2. Planímetros.

3. Recorte da área do pico e pesar na balança analítica.
4. Multiplicar a área do pico máximo pela largura da metade da altura.
5. Multiplicar a altura do pico por tempo de retenção.
6. Cálculo da área do triângulo formado por traçar duas tangentes através dos pontos de inflexão do pico, sendo a linha da base, a base do triângulo.

De todos os métodos, somente os 1, 2, e 4 são usados frequentemente na prática. Os planímetros são desvantajosos porque exigem uma atenção especial por parte do analista ao traçar as curvas o que lhe consome muito tempo e não só como também para análises rotineiras onde centenas de picos são diariamente obtidos, estes se tornam impraticáveis. O método excelente é o de uso de integradores automáticos, para além deste o de multiplicação da área do pico pela largura da metade da altura torna-se ideal. Para tal é necessário saber que a altura gaussiana do pico máximo ( $h_m$ ) é a razão da área total do pico e do seu desvio padrão.

$$h_m = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\Pi}} \quad (10)$$

por sua vez a largura da metade da altura é definido como sendo:

$$w_h = 2,354\sigma \quad (11)$$

substituindo o valor de  $\sigma$  na equação (9) obtém-se:

$$h_m w_h = \frac{2,354A}{\sqrt{2\Pi}} = 0,94A \quad (12)$$

isto quer dizer que a multiplicação da altura do pico máximo com a largura da metade da altura dá 94% da área total do pico gaussiano. Este é o factor de proporcionalidade que pode ser aplicado para todos os picos cromatográfico incluindo o de padrão para estabelecer uma proporcionalidade adequada para todos os picos.

O método tem duas limitações:

- (a) caso de assimetria (pico não gaussiano)-a área calculada pode não corresponder a área real e ser comparada com os valores de áreas calculadas para picos simétricos (gaussiano).
- (b) No caso de pico muito estreito ou muito pequeno, a largura da metade da altura não pode ser medida convenientemente com a precisão desejada [10].

### 5.6 Vantagens da cromatografia gasosa

- Possibilidade de separação de compostos de série homóloga e de isômeros.
- Rapidez na obtenção dos resultados.
- Requer pequenas quantidades de amostra com mínima preparação das mesmas.
- O método é aplicável para diversos tipos de amostras.
- É distinguível de outros métodos instrumentais por simplicidade e segurança da operação.
- É relativamente fácil para interpretar os resultados

### 5.7 Limitações da cromatografia gás-líquido

Este método fica assim restrito a compostos muito voláteis, isto é, os que podem existir na fase gasosa nas condições de operação, ou aos que não sendo eles próprios voláteis podem ser decompostos resultando em produtos voláteis, ou ainda os que podem ser transformados por via química em derivados voláteis. Embora tenha sido provado que este método é eficiente e pode separar compostos tais como  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $C_2H_4$ ,  $C_2H_6$  etc., na prática é inconveniente para a análise de compostos gasosos com baixo peso molecular devido a dificuldade de encontrar a fase estacionária adequada [4] e [5].

## 6. Espectrometria de massas

O princípio da espectrometria de massas consiste na degradação de pequenas quantidades de compostos orgânicos e registo das fragmentações de acordo com as suas massas. A amostra é submetida num sistema de baixa pressão no espectrómetro de massas onde é ionizado com energia suficiente para causar a fragmentação das ligações químicas. As cargas resultantes são aceleradas num campo magnético que os dispersa e permite executar as medições das intensidades relativas em função da sua massa.

### 6.1 Funcionamento do Espectrómetro de massas

Na sua forma simples o espectrómetro de massas é feito para desempenhar três funções básicas:

- 1- Para vaporizar compostos numa faixa ampla de volatilidade;
- 2- Para produzir iões a partir das moléculas em fase gasosa;
- 3- Para separar iões de acordo com a razão massa/carga, detectar e registá-los.

Os métodos que são utilizados para a produção dos iões em fase gasosa requerem energia vibracional suficiente para o composto que irá fragmentar-se dando lugar a novo ião e ao produto neutro.

Os espectrómetros de massas são basicamente compostos por sete blocos dispostos como abaixo se indica esquematicamente.

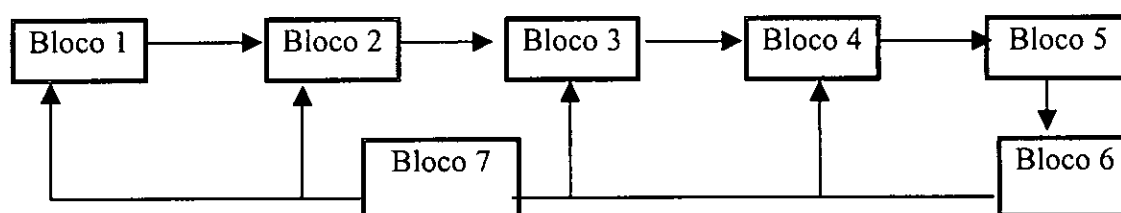


Figura 7: esquema de funcionamento do espectrómetro de massas

#### Legenda

- Bloco 1: Sistema de entrada de amostras
- Bloco 2: Sistema de ionização
- Bloco 3: Sistema de separação de iões
- Bloco 4: Sistema de detecção de iões
- Bloco 5: Sistema de amplificação da corrente de iões
- Bloco 6: Sistemas do registo do espectro de massas
- Bloco 7: Sistema de vácuo (alta pressão)

Bloco 1: Neste bloco dá-se a injeção da amostra e a vaporização da mesma.

Bloco 2: Este bloco comporta o sistema de ionização das moléculas, para tal usam-se vários métodos de ionização de entre os quais se destacam os seguintes:

- Ionização electrónica
- Ionização química
- Campo de desorção

- Ionização por uso de um campo eléctrico forte
- Bombardeamento atómico rápido
- Fotoionização [20]

Define-se potencial de ionização a energia requerida para remover um electrão da orbital molecular de maior nível energético e é representado por:



Onde  $M^+$  é usado para indicar que o ião molecular formado é ao mesmo tempo o ião positivo e radical.

Bloco 3: Uma vez ionizadas as moléculas, os iões são obrigados a percorrer um caminho circular de raio " $r$ ". Um ião tendo a carga " $e$ " quando acelerado com uma voltagem " $V$ " irá adquirir uma energia cinética " $eV$ " que é independente da sua massa.

$$\frac{1}{2}mv^2 = eV \quad (13)$$

onde: " $m$ " é a massa do ião e " $v$ " a sua velocidade depois da aceleração.

Num campo magnético de força " $H$ " um ião irá experimentar a força de  $Hev$ , produzindo uma aceleração de  $v^2/r$  num caminho circular de raio " $r$ ". Assim da segunda lei de Newton de movimento tem-se:

$$Hev = \frac{mv^2}{r} \quad (14)$$

A partir das equações (12) e (13) obtém-se:

$$\frac{m}{e} = \frac{H^2 r^2}{2V} \quad (15)$$

a partir da fórmula (14) é evidente que para um dado campo magnético e voltagem da aceleração, iões de valor  $m/e$  irão seguir uma trajectória circular de raio " $r$ ". Sendo assim, a selecção é feita fazendo passar os iões por uma fenda de largura variável. Na prática, pode ser variado o " $H$ " mantendo-se o  $V$  constante ou vice-versa [2].

Bloco 4: Comporta o sistema de detecção dos iões anteriormente separados, por meio de detectores fotoeléctricos.

Bloco 5: Este bloco responde pela amplificação do sinal recebido pelo detector.

Bloco 6: É responsável pelo registo do espectro de massas. Actualmente os espectros de massas são registados por meio de um computador acoplado ao espectrómetro de massas.

Bloco 7: Para que os quatro primeiros blocos funcionem convenientemente devem estar sob o vácuo e esta unidade garante o fornecimento do vácuo.



Existem dois tipos de espectrômetros de massas: os de simples enfoque e os de duplo enfoque. A diferença entre ambos reside no poder de resolução que é limitado para os de simples enfoque devido a distribuição de Boltzmann e o campo não homogêneo na fonte. Este problema pode ser resolvido fazendo passar os iões através de um campo eléctrico antes de chegar ao magnético. Os instrumentos de duplo enfoque tem um poder de resolução muito alto porque para além de um campo magnético apresentam também um campo eléctrico que influencia a velocidade de focalização dos iões colocando-os numa fenda entre o analisador magnético e electrostático. Assim os iões de energia cinética definida são seleccionados para análise das suas massas.

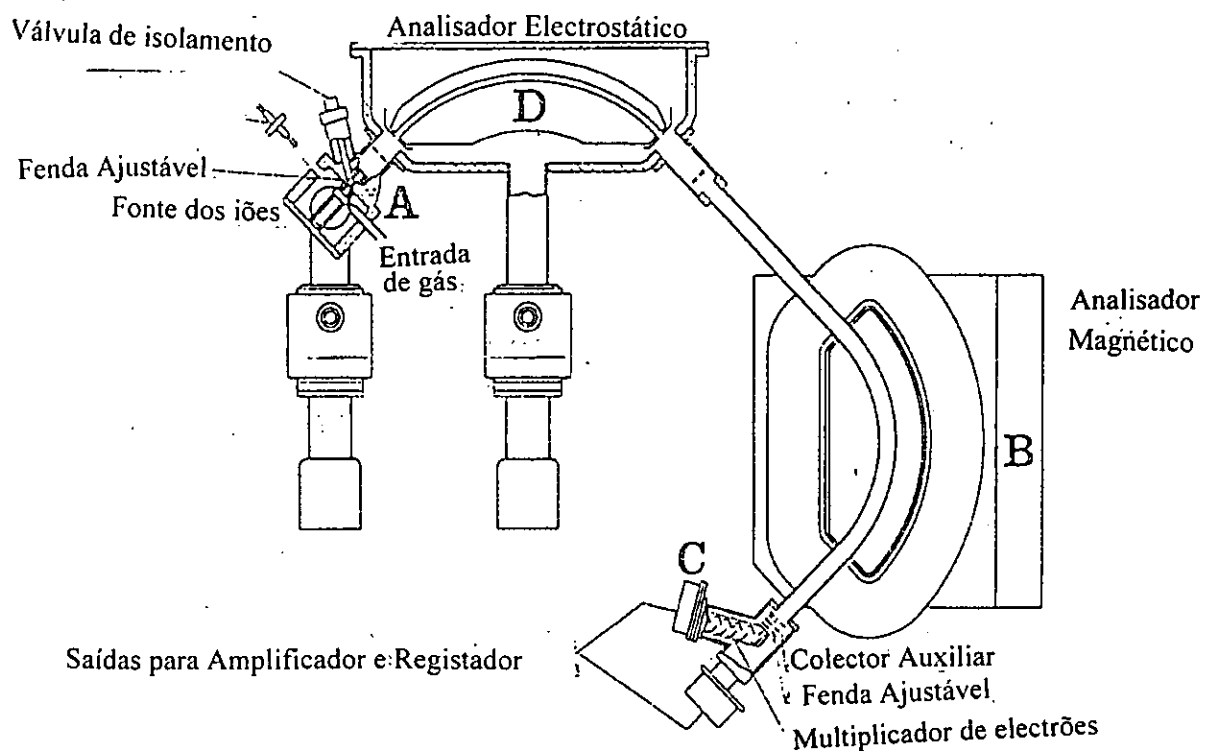


Figura 9: O espectrômetro de massas de duplo enfoque

## 6.2 Processamento de dados

Para padronizar os dados é necessário medir as alturas de todos os picos e o registo de cada valor  $m/z$  do pico metastável na ordem de  $10^{-1}$ . O espectro de massas é por sua vez normalizado, isto é, as contribuições de cada pico originados pelas vibrações do aparelho e dos efeitos isotópicos são removidos. Ao pico de maior intensidade é atribuído a abundância relativa de 100% e todas as intensidades de outros picos são calculados em relação a este.

## 6.3 Percentagem total da corrente dos iões ( $\% \sum_m$ )

O comportamento da fragmentação de alguns picos de compostos são nalguns casos discutidos como percentagem da corrente total dos iões ( $\% \sum_m$ ), onde "m" corresponde ao ião de baixo valor  $m/z$  incluído na soma. Para encontrar a corrente total dos iões são adicionados os valores normalizados de cada pico à ião parental. O ião parental ou molecular do composto é formado por remoção de um electrão a partir de molécula neutra; este pico é designado como sendo  $M^+$  ou  $P^+$ . Os termos intensidade e intensidade relativa são usados para descrever respectivamente o tamanho dos picos e a altura dos picos dos iões em discussão.

## 6.4 Isótopos

Os isótopos dos elementos diferem entre si em número de neutrões dos seus núcleos, por essa razão, dão iões de massas diferentes em espectrometria de massas. A altura relativa dos picos de um espectro de massas que corresponde ao valor  $m/z$  desses iões é medida como sendo a razão da abundância natural dos isótopos desse elemento. Por exemplo, o cloro tem peso atómico 35,5 e tem dois isótopos  $^{35}_{17}\text{Cl}$  e  $^{37}_{17}\text{Cl}$  com a abundância natural de 3:1 logo, para um composto que contém átomo de cloro na sua composição apresentará dois picos de ião molecular com razões de abundância de 3:1 que corresponde respectivamente ao  $^{35}_{17}\text{Cl}$  e  $^{37}_{17}\text{Cl}$ . Normalmente, quando se faz uma discussão da natureza dos iões formados a partir do composto num espectro de massas, é frequente considerar-se os isótopos mais abundantes dos elementos, como é o caso de  $^{12}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^{35}\text{Cl}$  etc. Em geral, quando mais do que um átomo com isótopo está presente a probabilidade de um dos átomos ser isotópico é encontrada usando a expressão:

$$(a+b)^m \quad (16)$$

Onde:

“a” é a percentagem da abundância natural do isótopo mais leve ( mais abundante).

“b” é a percentagem da abundância natural do isótopo mais pesado (menos abundante).

“m” é o número de átomos desse elemento presentes na molécula.

Portanto, na espectrometria de massas a existência de isótopos não deve, de forma nenhuma ser ignorada, uma vez que cada isótopo vai dar diferente contributo nos diferentes picos que figuram no espectro de massas. Este efeito isotópico pode ser determinado pela seguinte expressão:

$$\frac{I^{Isotópico}}{I^{Principal}} = \frac{n_C \times A\%_{^{13}\text{C}} + n_H \times A\%_{^2\text{H}} + n_N \times A\%_{^{15}\text{N}} + \dots + n_i \times A\%_{^i}}{100\% - (n_C \times A\%_{^{13}\text{C}} + n_H \times A\%_{^2\text{H}} + n_N \times A\%_{^{15}\text{N}} + \dots + n_i \times A\%_{^i})} \quad (17)$$

onde:

$I^{Isotópico}$  é a intensidade do pico isotópico

$I^{Principal}$  é a intensidade do pico principal

$n_C, n_H, n_N, \dots, n_i$  refere-se aos números de átomos de carbono, hidrogénio, azoto e o número de átomos da espécie “i” que integra a molécula.

$A\%_{^{13}\text{C}}, A\%_{^2\text{H}}, A\%_{^{15}\text{N}}, \dots, A\%_{^i}$  são as abundâncias relativas dos isótopos  $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$  e da espécie “i” contemplada na estrutura molecular.

### 6.5 Poder de resolução

Define-se o poder de resolução como sendo a capacidade com que um espectrómetro pode separar iões de massas  $m_1$  e  $m_2$  muito próximas. A expressão matemática que define o poder de resolução é:

$$\text{poder de resolução} = \frac{m_1}{\Delta m} \quad (18)$$

Onde:  $\Delta m$  é a diferença entre as massas  $m_1$  e  $m_2$  [3].

### 6.6 Iões metastáveis e sua origem

Se um ião molecular de massa  $m_1$  e de carga simples não se dissocia antes de atingir o detector é registado como sendo o ião molecular. Todavia, se a reacção  $m_1^+ \rightarrow m_2^+$  ocorre na fonte de ionização o ião  $m_2^+$  irá percorrer a região da análise com a massa  $m_2$  e será registado como ião  $m_2^+$ .

Contudo, é possível que a transição  $m_1^+ \rightarrow m_2^+$  ocorra depois da câmara de ionização mas antes do detector estes iões que se formam por esta transição chamam-se iões metastáveis [2].

Para estes casos o ião resultante será registado como pico de banda difusa e de baixa intensidade cuja posição no espectro é dada pela equação:

$$m^+ = \frac{(m_2^+)^2}{m_1^+} \quad (19)$$

A presença do pico metastável é evidência da decomposição por etapas mas o não aparecimento do pico metastável não significa ausência da decomposição por etapas.

### 6.7 Vantagens da espectroscopia de massas

Análises de misturas sem prévia separação

Técnica de análise rápida e sensível

Determinação da massa molecular a partir do ião molecular e no caso em que este está ausente poder-se-á determinar por fragmentações típicas da classe dos compostos em estudo.

### 6.8 Desvantagens da espectroscopia de massas

Técnica bastante cara

### 6.9 Cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massas

A detecção e separação de quantidades traços de amostras de compostos orgânicos a partir de misturas é facilmente alcançado por cromatógrafo gás-líquido e a caracterização dos componentes é conseguido graças aos tempos de retenção apropriados para uma coluna especial em uso. A espectroscopia de massas por causa da sua sensibilidade e rápida análise é muito conveniente para fornecer informação estrutural definida a partir de pequenas quantidades de amostra eluídas do gás cromatógrafo. A combinação das duas técnicas tem sido, por essa razão, o método mais poderoso para a identificação estrutural dos componentes de misturas orgânicas naturais e sintéticos.

Na interface entre o GC e o MS está o separador de jacto. É necessário introduzir esta componente sempre que se pretende passar pelo GC quantidades relativamente grandes do gás transportador. Quando o gás de arraste é permitido entrar na fonte de ionização electrónica, a pressão dentro da

câmara de ionização aumenta consideravelmente e, este efeito pode ser minimizado graças ao separador de jacto. A necessidade do separador pode ser evitado se se dispuser das colunas capilares do GC associada à ionização química.

Em GC/MS, o espectrómetro de massas pode ser usado como detector. Neste processo, a corrente total dos iões produzidos é usada no lugar de ionização de chama ou detecção por captura electrónica [2] e [13].

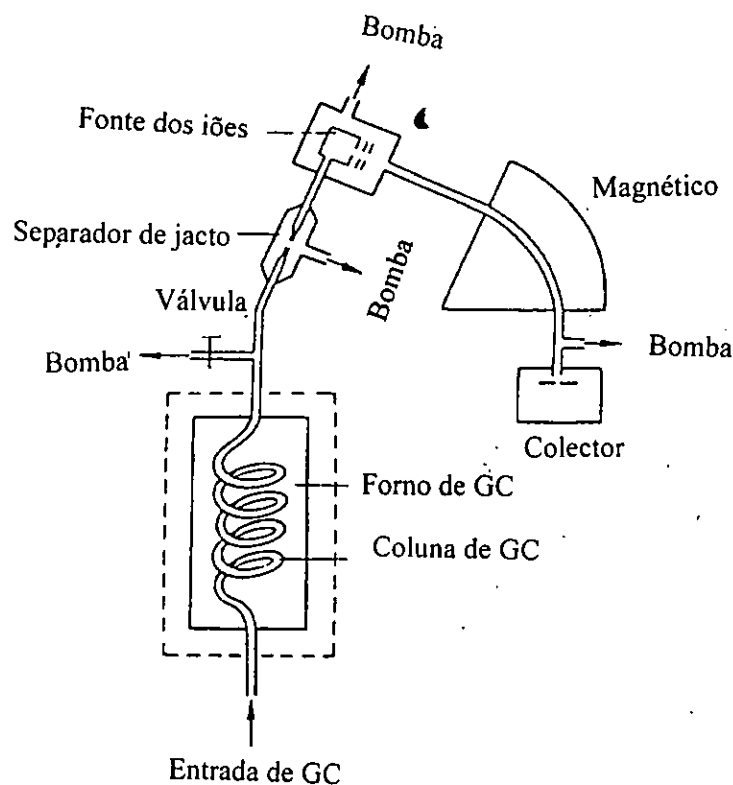


Figura 9: GC acoplado a MS

### 6.10 Requisitos para o acoplamento entre o GC-MS

São requisitos para um acoplamento eficaz os que se fazem menção a baixo:

#### O gás cromatógrafo

Esta unidade deve garantir que a permuta de colunas seja exequível sem dificuldades de forma a seleccionar a coluna mais apropriada, que separa rápida e completamente, as misturas em estudo.

#### O espectrómetro de massas

### O espectrómetro de massas

O espectrómetro de massas deve ser capaz de responder a velocidade do gás cromatógrafo. Geralmente, para um espectrómetro de massas eficaz, o tempo de análise de um composto que chega ao detector deve ser menor do que o tempo médio de eluição do pico cromatográfico para evitar a variação excessiva da quantidade do efluente durante a análise.

### A interface GC/MS

Deve ser capaz de suportar a pressão de trabalho. É conveniente separar o gás transportador do efluente da amostra. A transferência do efluente da amostra através da interface deve ser rápida e eficiente.

### A amostra

As amostras que se pretendem estudar por este sistema devem conferir alta volatilidade. É desejável embora não essencial, que as amostras dêem iões moleculares abundantes. É de salientar que os requisitos para o sucesso da operação de GC/MS podem ser encontrados de várias maneiras dependendo das necessidades de operador [2].

## III. Parte Experimental

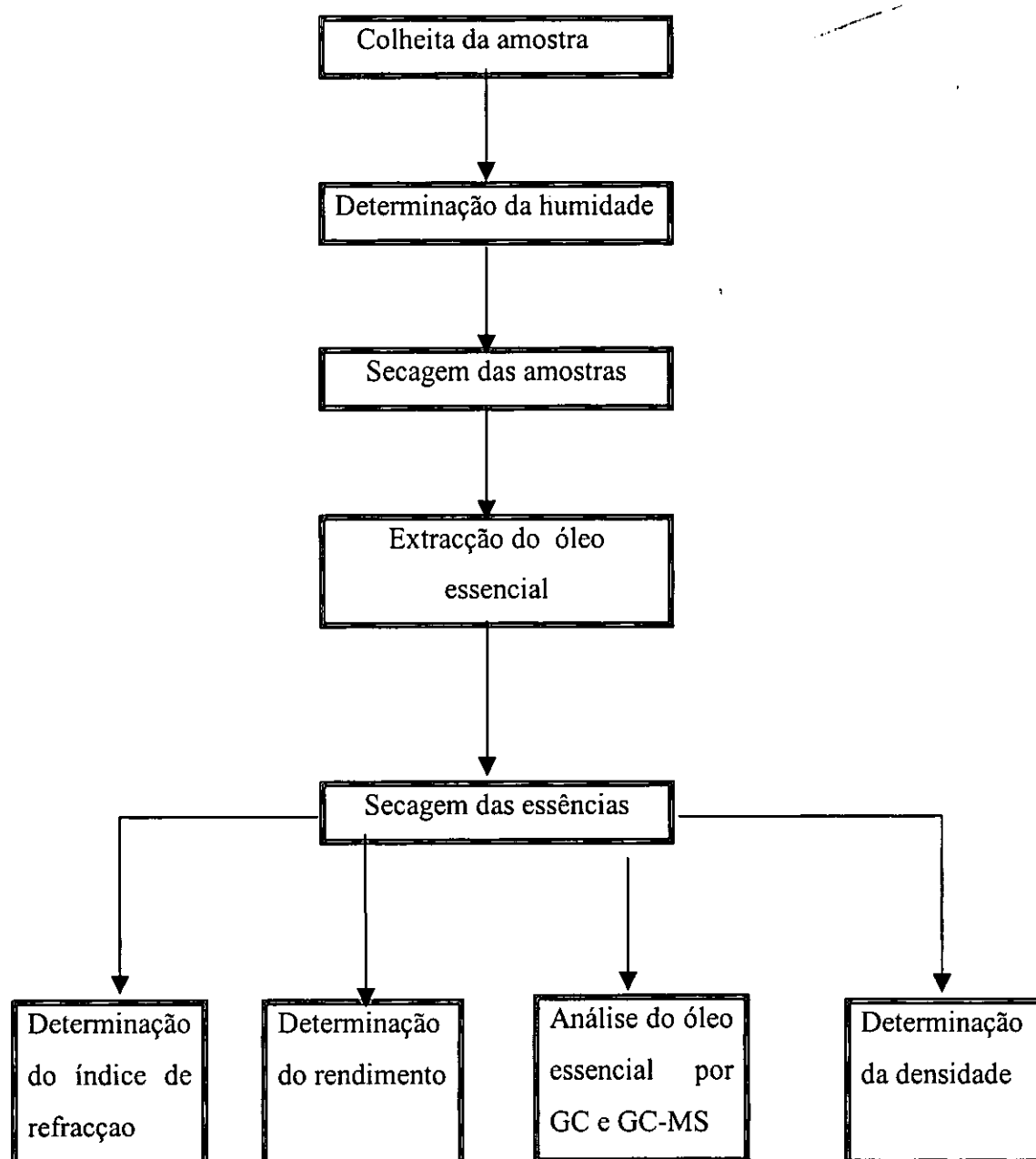
### 7. Selecção da amostra

A etapa da selecção da amostra obedeceu como critério fundamental a presença de hidrocarbonetos monoterpénicos em certas espécies de plantas, cuja aplicação é de certo modo considerável. Nesta perspectiva, foi seleccionada uma planta das nove previamente estudadas durante a pesquisa para a realização do trabalho de licenciatura: a *cupressus funebris* da família *pináceae*, uma vez que os estudos preliminares indicavam a presença de quase todos os monoterpénóides.

#### 7.1 Colheita da Amostra

A colheita da amostra decorreu no dia 22/01/00 na região de Namaacha, cerca de 2 Km de cascata. Foram colhidas as amostras de todas as partes da planta (raízes, caule e folhas) mas devido ao baixo

rendimento das raízes e do caule, apenas as folhas é que foram estudadas. O esquema abaixo indica as etapas seguidas para o tratamento da amostra em estudo.



## 7.2 Extracção do óleo essencial

O óleo essencial foi extraído usando dois aparelhos: O hidrodestilador de Clevenger e o extractor de Kissue. A diferença entre os dois destaca-se no sistema de refrigeração. Enquanto que no

hidrodestilador de Clevenger o sistema de refrigeração é externo, no extractor de Kissue é interno, sendo por isso de esperar que o rendimento da extracção aumenta moderadamente.

No total foram feitas quarenta extracções sendo vinte para as folhas frescas e vinte para as secas. Das vinte extracções feitas em cada caso dez foram extraídas pelo Clevenger normal e outras dez pelo extractor de Kissue. O objectivo deste ensaio era de verificar em que caso temos maior rendimento.

De salientar que a temperatura de refrigeração foi de 10 °C e o óleo obtido é de cor amarela claro e de cheiro agradável. Quando oxidado passa de amarela à castanha não intensa, esta oxidação pode ocorrer a temperatura ambiente quando este permanece no hidrodestilador de Clevenger por mais de dois dias.

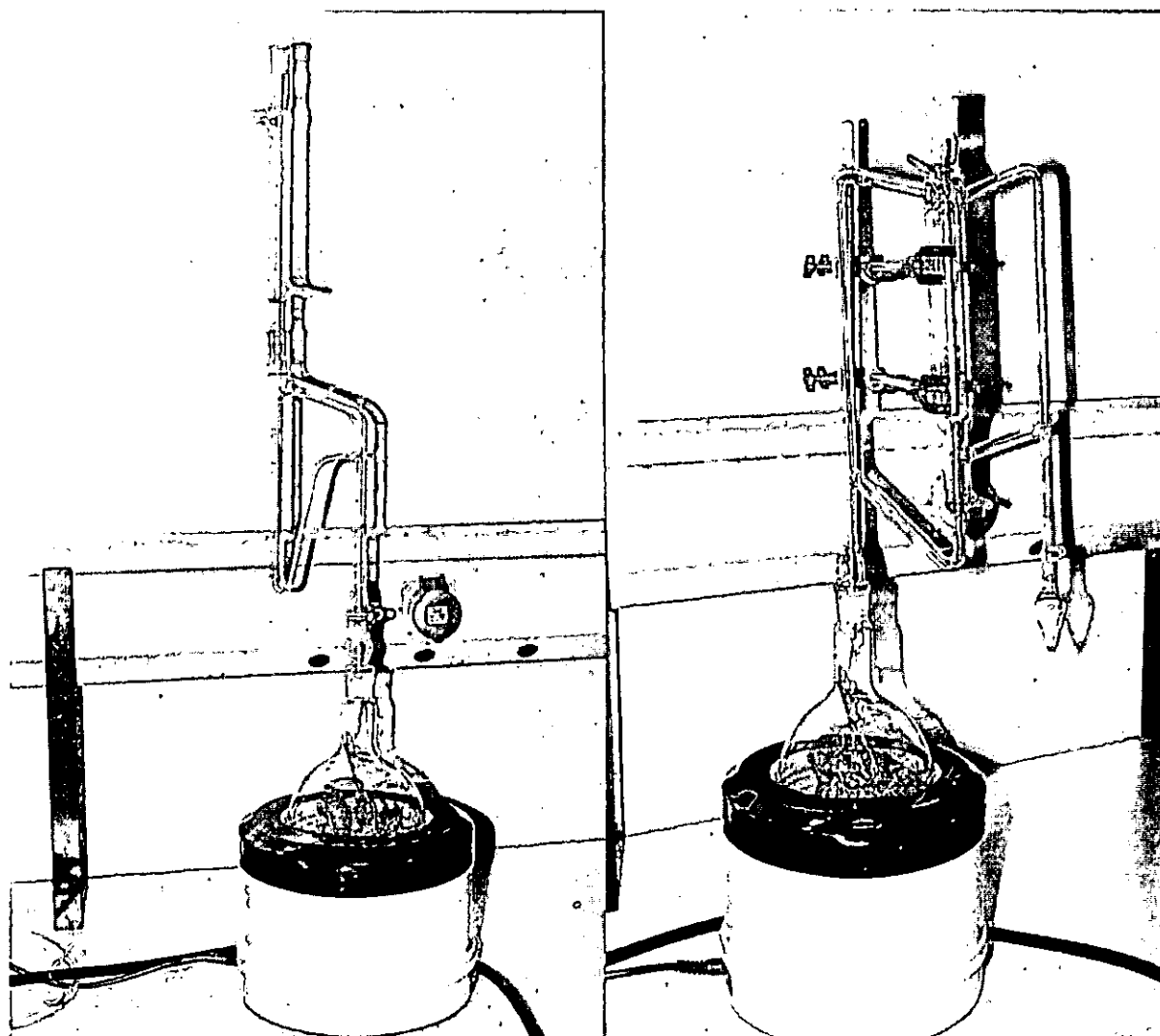


Figura 10: Aparelhos de extracção de essências



A determinação do conteúdo do óleo essencial em plantas aromáticas é conseguido graças aos aparelhos de extracção de Clevenger e de Kissue. Estes aparelhos são considerados oficiais em muitas farmacopeias. Eles consistem num balão volumétrico, condensador, tubo graduado e tubo de retorno. A amostra é colocada no balão juntamente com a água e aquece-se a mistura numa manta eléctrica. O sistema é fechado de tal modo que a água de co-destilação retorna ao balão pelo tubo de retorno, este pode se encontrar tanto em cima como em baixo do tubo graduado de acordo com a densidade do óleo em água.

Em casos em que a planta em estudo tem um rendimento baixo, uma quantidade conhecida de xileno pode ser adicionada no tubo graduado acima da camada da água de co-destilação, atendendo a condição de que os óleos essenciais não são miscíveis com água e são solúveis em solventes orgânicos. Neste caso, a quantização da essência é feita por diferença do volume inicial e final do xileno.

### **7.3 Secagem da essência**

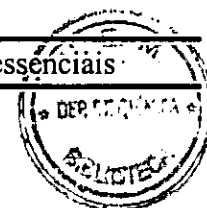
As essências foram secas fazendo-as passar um funil contendo sulfato de magnésio anidro ou cloreto de cálcio anidro e de preferência granular ( $MgSO_4$  e  $CaCl_2$ ), estes reagentes têm entre outras propriedades a de reter todas as quantidades traço da água de co-destilação contidas na essência de tal forma que nas operações subsequentes não haja interferência da mesma.

### **7.4 Determinação da humidade**

A determinação da humidade tem como fundamento a quantificação do teor da água presente nas partes da planta em estudo.

### **7.5 Determinação do índice de refração**

O índice de refração é a razão entre o seno do ângulo de incidência e seno do ângulo de refração, quando um raio luminoso de comprimento de onda definido passa do ar para o óleo à temperatura constante. Coloca-se uma gota de amostra entre os prismas superior e inferior do instrumento e lê-se o valor do índice de refração uma vez convertido o valor do ângulo crítico.



## 7.6 Determinação da densidade

A densidade é uma grandeza física que mostra a quantidade em gramas contida em um mililitro de essência. Para esta determinação usamos como material um picnómetro de capacidade 1 cm<sup>3</sup>.

## 7.7 Análise do óleo pela cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

O óleo da *cupressus* foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. O objectivo principal desta análise é identificar por meio de cromatografia gasosa e espectrometria de massas os compostos monoterpénicos e criar um método simples para a identificação dos monoterpénóides em qualquer que seja a amostra se se tiver as mesmas condições de trabalho. Assim, o estudo foi dividido em 4 partes:

- O estudo da composição do óleo registado em duas colunas (DBWax e DB-5).
- O estudo da composição da parte não condensada (vapores mais volátil).
- O estudo da parte que não se volatiliza dissolve-se na água e é perdida na forma de hidrolatos (água de extracção).
- O estudo dos vapores libertos quando a folha fresca é submetida ao aquecimento (SPME).

Os cromatogramas obtidos para cada caso estão apresentados nos anexos deste trabalho.

## 7.8 Condições de operação em GC-MS

### Aparelho

GC-MS QP5050A

Gás Cromatógrafo- Espectrómetro de massas

SHIMADZU

### Aparelho:

GC-17A

Gás cromatógrafo

SHIMADZU

Temperatura do forno: 60 °C

Temperatura do injector: 250 °C

Temperatura do interface: 230 °C

Comprimento da coluna: 30 metros

Diâmetro da coluna: 0,25 centímetros

Pressão na coluna: 53 Kpa

Fluxo na coluna: 1,0 ml/minuto

Velocidade linear: 35,6

Fluxo total: 52,3 ml/minuto

Fluxo de arraste: 52,3 ml/minuto

Tempo do programa: 51,50 minutos

Vácuo: 4,5

Os compostos analisados devem ter o ião molecular situado entre m/z: 35 e m/z: 425

Tempo inicial: 3,05 minutos

Voltagem do detector: 1.30 Kv

Gás transportador: Hélio

### 7.9 Preparação dos padrões

Para a identificação dos compostos encontrados foram preparados os padrões que se seguem e estudados os tempos de retenção de cada um deles. É evidente que para se obter resultados concordantes, o analista deve ser metódico, isto é uniformizar os seus passos durante a injeção e o início da contagem do tempo.

Na preparação dos padrões dissolvem-se 1 $\mu$ l do padrão em 1 ml de n-heptano. Para se conseguir esta eficiência utiliza-se capilares com a mesma capacidade (1 $\mu$ l). O solvente n-heptano não é o ideal mas é usado na falta de n-hexano pois não cria interferência durante o processo de análise. A amostra é preparada de maneira similar para a uniformização da matriz.

### III. Resultados experimentais

Tabela 3: resultados dos tempos de retenção dos padrões usados em GC-MS

Preparação: 1 µl do padrão em 1ml de n-heptano

Nº	Composto	Tempo de retenção	Coluna
1	α-pineno	5,725	DB-5
2	Canfeno	6,108	DB-5
3	β-pineno	6,800	DB-5
4	Mirceno	7,142	DB-5
5	α-felandreno	7,525	DB-5
6	Δ <sup>3</sup> -careno	7,808	DB-5
7	P-cimeno	8,067	DB-5
8	Limoneno	8,167	DB-5
9	1,8 cineol	8,283	DB-5
10	γ-terpineno	9,100	DB-5
11	Cis-p-menta-2,8-dien-1-ol	10,967	DB-5
12	Trans-verbenol	11,800	DB-5
13	(+/-) citronelal	11,925	DB-5
14	Dimercitol ou 1,1, 5 trimetil hepten-6-ol	12,592	DB-5
15	α-terpeneol	13,367	DB-5
16	Acetato de citronelal	14,350	DB-5
17	β-citronelol	14,458	DB-5
18	Nerol	14,567	DB-5
19	Pulegona (+) R	14,742	DB-5
20	l-carvona	14,900	DB-5
21	P-geraniol	15,225	DB-5
22	Geranial mistura	15,367	DB-5
23	Acetato de isoborneol	16,542	DB-5
24	Carvacrol	16,750	DB-5
25	Copaeno	20,125	DB-5
26	δ-cadineno	24,992	DB-5
27	Elemol	25,725	DB-5
28	α-eudesmol	28,450	DB-5

Tabela 4: resultados da extracção das essências

Amostra: 100 gramas de folhas

Nº de réplicas	Hidrotilador de Clevenger		Extractor de Kissue	
	Volume obtido a partir das folhas secas em mililitro	Rendimento (% v/p)	Volume obtido a partir das Folhas secas em mililitro	Rendimento (% v/p)
1	0,2	0,2	0,35	0,35
2	0,2	0,2	0,35	0,35
3	0,2	0,2	0,4	0,4
4	0,2	0,2	0,4	0,4
5	0,3	0,3	0,4	0,4
6	0,3	0,3	0,4	0,4
7	0,2	0,2	0,35	0,35
8	0,3	0,3	0,4	0,4
9	0,3	0,3	0,4	0,4
10	0,3	0,3	0,4	0,4

Tabela 5: resultados da determinação da humidade das folhas

Nº de ensaios	Massa do cadinho	Massa do cadinho com folhas frescas	Massa do cadinho com folhas secas	% da humidade
1	16,050g	17,050g	16,620g	43,0
2	15,440g	16,440g	16,009g	43,1

**Limites de confiança**

n	n-1	$\mu$	S	$t_{(crit, p = 0,05, 2T, v = 1)}$	$\mu \pm t \cdot S/n^{1/2}$
2	1	0,431	0,001	12,71	$0,431 \pm 0,0089$

Tabela 6: resultados da determinação índices de refração

Nº de ensaios	Índice de refração	Nº de réplicas	Índice de refração
1	1,46967156	6	1,4695715
2	1,4696715	7	1,4697719
3	1,46957159	8	1,4696719
4	1,4695715	9	1,4697719
5	1,4694715	10	1,4697719

**Limites de confiança**

n	n-1	$\mu$	S	$t_{(crit, p=0,05, 2T, v=9)}$	$\mu \pm t*S/n^{1/2}$
10	9	1,469651715	$9,775252199*10^{-5}$	2,26	$1,469651715 \pm 0,0007$

Tabela 7: Resultados da determinação de densidade

Massa do picnómetro com tampa = 25,298g			
Nº de ensaios	Massa em gramas do picnómetro, tampa e óleo	Nº de réplicas	Massa em gramas do picnómetro, tampa e óleo
1	26,216	6	26,217
2	26,215	7	26,217
3	26,216	8	26,216
4	26,217	9	26,216
5	26,216	10	26,216

**Limites de confiança**

n	n-1	$\mu$	S	$t_{(crit, p=0,05, v=9)}$	$\mu \pm t*S/n^{1/2}$
10	9	26,2162	$6,324*10^{-4}$	2,26	$26,2162 \pm 0,00045$

$$\rho_1 = \frac{m_1}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml \quad (20)$$

$$\rho_2 = \frac{m_2}{V} = \frac{26,215g - 25,298g}{1ml} = 0,917 g/ml$$

$$\rho_3 = \frac{m_3}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml$$

$$\rho_4 = \frac{m_4}{V} = \frac{26,217g - 25,298g}{1ml} = 0,919 g/ml$$

$$\rho_5 = \frac{m_5}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml$$

$$\rho_6 = \frac{m_6}{V} = \frac{26,217g - 25,298g}{1ml} = 0,919 g/ml$$

$$\rho_7 = \frac{m_7}{V} = \frac{26,217g - 25,298g}{1ml} = 0,919 g/ml$$

$$\rho_8 = \frac{m_8}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml$$

$$\rho_9 = \frac{m_9}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml$$

$$\rho_{10} = \frac{m_{10}}{V} = \frac{26,216g - 25,298g}{1ml} = 0,918 g/ml$$

$\rho$  é a densidade

onde:  $m$  é a massa em gramas do óleo em análise

$V$  é o volume do óleo

#### 8.4 Tratamento estatístico de dados

Teste de significância para a eficiência de extração usando dois aparelhos para uma mesma amostra.

Tabela 8: comparação da eficiência dos aparelhos de extração

Nº de réplicas	Clevenger Normal	Aparelho de Kissue
	Volume das folhas secas em mililitro	Volume das Folhas secas em mililitro
1	0,2	0,35
2	0,2	0,35
3	0,2	0,4
4	0,2	0,4
5	0,3	0,4
6	0,3	0,4
7	0,2	0,35
8	0,3	0,4
9	0,3	0,4
10	0,3	0,4

## Tratamento de dados

Tipo do Aparelho	n	n-1	$\mu$	S	$t_{(crit, p = 0,05, v=18)}$
Clevenger	10	9	0,25	0,0527	2,10
Kissue	10	9	0,385	0,0242	2,10

$$H_0: \mu_a = \mu_b$$

$$H_A: \mu_a \neq \mu_b$$

Para este caso o desvio padrão é dado pela fórmula:

$$S = \sqrt{\frac{(n-1)S_a^2 + (n-1)S_b^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (21)$$

$$S = \sqrt{\frac{(10-1)(0,0527)^2 + (10-1)(0,0242)^2}{10+10-2}} = 0,041$$



$$t_{\text{calculado}} = \left| \frac{\mu_a - \mu_b}{S} \right| \sqrt{\frac{n_1 * n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$t_{\text{calculado}} = \left| \frac{0,25 - 0,385}{0,041} \right| \sqrt{\frac{10 * 10}{10 + 10}} = 7,35$$

$$t_{(\text{critico}, P=0,05; 2T, v=18)} = 2,10$$

$$t_{\text{calculado}} > t_{\text{critico}}$$

$$7,35 > 2,10$$

**Conclusão:** rejeita-se a hipótese nula. Isto significa que a um nível de confiança de 95% poder-se-à detectar um desvio significativo entre as médias dos dois métodos. Mas esta conclusão deve ser fundamentada pela comparação dos desvios padrão usando o teste F.

$$H_0 : S_a^2 = S_b^2$$

$$H_A : S_a^2 \neq S_b^2$$

$$F = \frac{S_a^2}{S_b^2} \quad (22)$$

$$F = \frac{(0,0527)^2}{(0,0242)^2} = 4,74$$

$$F_{(\text{critico}, P=0,05; v=9;9)} = 3,179$$

$$F_{\text{calculado}} > F_{\text{critico}}$$

$$4,74 > 3,179$$

**Conclusão:** rejeita-se a hipótese nula. Isto é, a uma probabilidade de 0,05 (nível de confiança 95%) há diferença significativa entre os desvios padrão encontrados entre os dois métodos.

## 9. Regularidades espectrais

Os monoterpenóides identificados são isómeros de fórmula molecular  $C_{10}H_{16}$ . as diferenças estruturais estão na origem das diferenças espectrais. Porém, essas diferenças espectrais são notáveis com base na abundância relativa do ião formado. Existem vários factores que afectam a abundância de um ião, de entre eles se salientam:

### 9.1 A estabilidade do ião formado

O aumento da estabilidade é condição primária para o aumento da abundância relativa do ião uma vez que a sua dissociação secundária diminua consideravelmente. Contudo, o factor estabilidade não pode ser somente o importante para que o ião molecular produza os restantes picos, sabido que estes poderão ser formados por combinação de isomerização e decomposição em iões estáveis.

### 9.2 O efeito estérico

Este é o segundo factor muito importante que define a abundância relativa de um ião. Na espectrometria de massas os mecanismos de fragmentação e os rearranjos estruturais que as moléculas estão sujeitas desempenham papel de relevo, além disso, quando os grupos mais electronegativos estão presentes podem criar um efeito considerável na estrutura da molécula.

### 9.3 Fragilidade das ligações dos átomos de carbono

Na série carbono quaternário, terciário, secundário e primário a estabilidade aumenta e sendo o carbono quaternário o mais fraco, perde facilmente o grupo metílico e transformando-se em ião mais estável do que o anterior uma vez que foi reduzido o número de ramificações do carbono. Portanto, é de esperar que o ião formado a partir da eliminação do grupo metílico tenha uma intensidade relativa maior do que o ião molecular.

## 10 Conclusões

Este trabalho abre um novo campo para a investigação de outras plantas que são fontes de compostos voláteis (depois do estudo do eucalipto e de thuja), e de acordo com os resultados

encontrados, poder-se-à afirmar que o óleo da *cupressus* é rico em monoterpenóides servindo assim de base para as outras amostras. Enquanto que os hidrolatos contêm álcoois que devido a formação da ligação por pontes de hidrogénio entre eles e as moléculas de água estes ficam dissolvidos em água.

Todos os espectros dos hidrocarbonetos monoterpénicos do óleo da *cupressus* apresentam características comuns como por exemplo o pico do ião molecular ( $M^+ = 136$ ) bem como os picos de  $M^+ - 15$  e  $M^+ - 43$ . O pico do ião  $m/z: 80$  é muito pequeno mas significativo para todos os hidrocarbonetos monoterpénicos. Os iões metastáveis são identificados como picos difusos e de baixa intensidade que aparecem a  $m/z: 63,8$  e  $89,2$  correspondendo as fragmentações de  $136^+ \longrightarrow 93^+ + 43$  e  $93^+ \longrightarrow 91^+ + 2$  respectivamente no espectro de Mirceno. A primeira fragmentação corresponde a eliminação do grupo isopropílico e a segunda não é interpretada. O mirceno é o composto mais simples de se decompor neste grupo. O ião  $m/z: 93$  é provavelmente formado a partir do ião molecular. A ligação das unidades isoprénicas na posição alílica para as duas ligações duplas resultam na fragmentação que dá origem ao ião  $m/z: 69$  muito intenso e a presença do pico  $m/z: 24,3$  indica a formação do ião  $m/z: 41$  a partir de  $m/z: 69$ .

O espectro do limoneno apresenta alguns picos de intensidade relativa significativa como é o caso de  $M^+ = 136$ ,  $M^+ - 15$ ,  $M^+ - 27$  e  $M^+ - 43$ . Este último pode ser formado a partir de dois mecanismos diferentes, quer do ião molecular quer do ião  $M^+ - 15$ . Este composto tem o pico de base  $m/z: 68$  que corresponde a metade do ião molecular, isto é a uma unidade isoprénica.

Com a excepção do mirceno e do limoneno que têm respectivamente picos de base  $m/z: 41$  e  $m/z: 68$ , todos os hidrocarbonetos monoterpénicos tem o pico de base  $m/z: 93$ , este pico pode ser encontrado através de uma única fragmentação  $136^+ \longrightarrow 93^+ + 43$  ou através de duas fragmentações  $136^+ \longrightarrow 121^+ \longrightarrow 93^+$  mas nunca pela via  $136^+ \longrightarrow 108^+ + 93^+$ . A eliminação do grupo isopropílico é característico para esta classe de composto originando o pico de base  $m/z: 93$ .

Nos hidrolatos temos os álcoois cujos seus espectros de massas são mais complexos do que os de hidrocarbonetos monoterpénicos e muito diferentes um do outro pela posição e influência que o grupo polar hidroxilo ocupa na estrutura. A presença do grupo hidroxilo na estrutura é revelada pelo fragmento  $M^+ - 18$ . Quando o pico de base está ausente, a ocorrência dos picos  $M^+ - 15$  e  $M^+ - 18$  indicam simultaneamente a presença do álcool monoterpénico e possibilitam o cálculo do pico

molecular. A intensidade do íão parental é geralmente mais baixa nos álcoois do que em hidrocarbonetos.

O estudo dos rendimentos da amostra fresca revelou uma baixa percentagem de essência (difícil de quantificar) razão pela qual a amostra fresca não foi discutida neste trabalho. Embora a explicação não seja plausível, pensa-se que pela mesma razão que as plantas produtoras de óleos essenciais contém maior percentagem de essência em certos períodos de dia poderá servir de argumento para explicar que a humidade da folha tem efeitos negativos no rendimento da extracção.

A técnica de SPME dá resultados excelentes e pode ser adaptada para analisar uma outra classe de compostos orgânicos pese embora tenha uma baixa sensibilidade. Muitos compostos sobretudo os menos voláteis não aparecem vincados neste cromatograma ao contrário do que acontece ao do óleo, isto leva-nos a concluir que a quantidade extraída para o revestimento está rica em compostos de alta volatilidade e na matriz inicial da amostra permanecem os menos voláteis que são visíveis no cromatograma do óleo. Assim o equilíbrio estabelecido fica definido em termos da quantidade e do teor existente em cada uma das fases.

A experiência mostrou que os compostos que se volatilizam à temperatura abaixo da de refrigeração (10 °C) não são de relevância segundo se pode ver do seu cromatograma. Os picos que são apresentados neste cromatograma são na maior parte deles mal resolvidos e de longos tempos de retenção explicados pela fraca resposta do detector para com os compostos presentes (uma vez que este foi seleccionado para o estudo dos monoterpenos) e pela proporcionalidade inversa da resolução e temperatura. Isto significa que não há necessidade de se diminuir a temperatura de refrigeração quando o fim é estudar os monoterpenóides.

Pela estatística foi demonstrado que os rendimentos obtidos quando se utiliza o Clevenger normal e o aparelho de Kissue diferem significativamente entre si. O Clevenger normal dá uma média menor e um desvio padrão maior ao contrário do de Kissue. Logo, poder-se-à concluir que para efeitos da optimização da extracção é conveniente utilizar o aparelho de Kissue o que se explica pelo seu sistema de refrigeração melhorado (sistema interno). De salientar que se se comparar dois ensaios feitos em cada um dos Clevenger chegar-se-à a conclusão contrária (de que não existe diferença significativa entre os rendimentos fornecidos pelos dois aparelhos) mas um banco de dados de preferência contendo o número de réplicas maior do que cinco verifica-se esta conclusão.

**Recomendações**

A *cupressus* que foi objecto de estudo neste trabalho é uma planta velha, pelo que seria conveniente também investigar-se as folhas desta planta quando nova, com a finalidade de fazer uma análise quantitativa entre os teores da folhas da planta nova e da velha. Por outro lado, sendo a *cupressus* uma planta cultivada, há uma resistência por parte da população que a cultiva em ceder as amostras desta quando nova, o que constituiu um impasse para o nosso estudo.

Recomenda-se a continuação do estudo desta planta, investigando os sesquiterpenos que existem nesta planta e discutir sobre o tipo de coluna que poderá separar com êxito o germacreno "D", eudaleno e esqualeno com outros sesquiterpenos encontrados quando as folhas secas desta planta são maceradas durante 24 horas em n-heptano.

**Bibliografia**

- [1] Hill, Hilson C.; (1966), **Introduction to mass Spectrometry**, Volume III, Great Britain, London. Heyden & Son LTD.
- [2] Williams, Dudley H; & Ian Howe, (1972), **Principles of Organic Mass Spectrometry**, pág. 170-210, London; St. Louis; Johannesburg; Kuala Lumpur; Mexico; Montreal; New Delhi; Panama; Paris; Rio de Janeiro; Singapore; Sidney; Toronto. McGraw-Hill
- [3] Biemann, K.; (1962), **Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications**; New York; San Francisco; Toronto; London; McGraw-Hill Book Company, INC.
- [4] Neves, H.J.C. das; (1980), **Introdução à prática da cromatografia gás-líquido**; Lisboa
- [5] Keulemans, A. I.; (1957), **Gas Chromatography**; 2<sup>nd</sup> edition, 234pp, New York; London, Amsterdam-Holland; Chapman & Hall LTD.
- [6] Batham, M.G.; P.J. Keavy, C.J. Robinson; (1990), **Chromatography**, 3<sup>rd</sup> edition, 71 pp, Stockholm, Sweden, Grev. Turegatam.
- [7] Touchane, J.C. e M. F. Dobbins (1993), **Practice of Thin Layer chromatography**, 2<sup>nd</sup> edition, 405 pp. New York, John Wiley & Sons, INC.
- [8] Zlatkis, A. e V. Pretorius (1971), **Preparative Gas Chromatography**. 402 pp. New York, Wiley-Interscience.
- [9] Abbott, D. e R. S. Andrews (1966), **Introducción a La Cromatografía**, pag. 35-60. Madrid, Buenos Aires, México. Editorial Alhambra, S.A.
- [10] Ettre, L.S. & A. Zlatkis (1967), **The Practice of Gas Chromatography**, pag. 152-405. New York, London, Sydney. Wiley-Interscience.
- [11] Finar, I. L. (1959), **Organic Chemistry**, 2<sup>nd</sup> edition, vol II pág 242-420, Longmans.
- 8 [12] Cavaleiro, C.M.F. (1996), **Manual de Aulas Práticas de Farmacologia I**, pag. 62 Coimbra.
- [13] Williams, Dudley H., I. Fleming (1995), **Spectroscopy Methods in Organic Chemistry**, fifty edition, pag 170-212, London, New York, St Louis, San Francisco, Auckland, Bogotá, Caracas, Lisboa, Madrid, Mexico, Milan, Montreal, New Delhi, Panama, Paris, San Juan, São Paulo, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto. The McGraw-Hill Companies.
- [14] Hawley, G.G. (1977), **The Condensed Chemical Dictionary**, 9<sup>th</sup> edition, coeditor-encyclopedia of chemistry, coauthor-glossary of chemical terms, Van Nostrand Reinhold Company. New York, Cincinnati, Atlanta, Dallas, San Francisco, London, Toronto & Melbourne.
- [15] Stecher, P.G., M.J. Finkel, O. H. Siegmund e B.M.Szafranski (1960) **The Merck Index of Chemical and Drugs**, 7<sup>th</sup> edition, 1642 pp, an encyclopedia for chemists, pharmacists and members of allied professions. New Jersey, Merck & Co INC.

- [16] Henry, G. (1953), **Organic Chemistry**, An Advanced Treatise, vol. IV, New York, London. John Wiley & Sons, INC e Chapman & Hall, Limited.
- [17] Weast, R.C.; Samuel M. S.; Charles D. H. (1965), **Handbook of Chemistry and physics**, 46<sup>th</sup> edition, cleveland, The Chemical rubber CO.
- [18] Shugar, G.J., R.A. Shugar (1981), **Chemical Technicians Ready Reference Handbook**, 2<sup>nd</sup> edition, 357pp. New York, McGraw & Hill Book Company.
- [19] Pawliszyn, Janusz (1997), **Solid Phase Microextraction**, Theory and Practise, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto. Wiley-Vch.
- [20] Brown, D.W.; A.J. Floyd; M.Sainsbury (1988), **Organic Spectroscopy**, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore. John Wiley & Sons.
- [21] Jeffery, P.G.; P.J. Kipping (1972), **Gas Analysis by Gas Cromatography**, 2<sup>nd</sup> edition, pag. 55-66. Oxford, New York, Toronto, Sidney, Braunschweig. Pergamon Press.
- [22] Adams, Robert P. (1995) **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography & Mass Spectroscopy**, 2<sup>nd</sup> edition, 469pp, Carol Stream, Illinois USA. Allured Publishing Corporation.
- [23] Miller J.C. & J.N. (1988) **Statistics for Analytical Chemistry**, 2<sup>nd</sup> edition, New York, Chichester, Brisbane, Toronto. John Wiley & Sons; Ellis Horwood Limited.
- [24] Kin, Fung Dai (1996) **Manual de Estatística Aplicada a química Analítica**, Maputo. Faculdade de Ciências, Departamento de Química da U.E.M.





# Anexos

\*\*\* CLASS-5000 \*\*\* Report No. = 1 Data : BNM.D20 00/02/25 11:59:59

Sample ID : Cupressus (DBMAX)

Sample Amount : 0

Dilution Factor : 0

Type :

Operator : Pagula

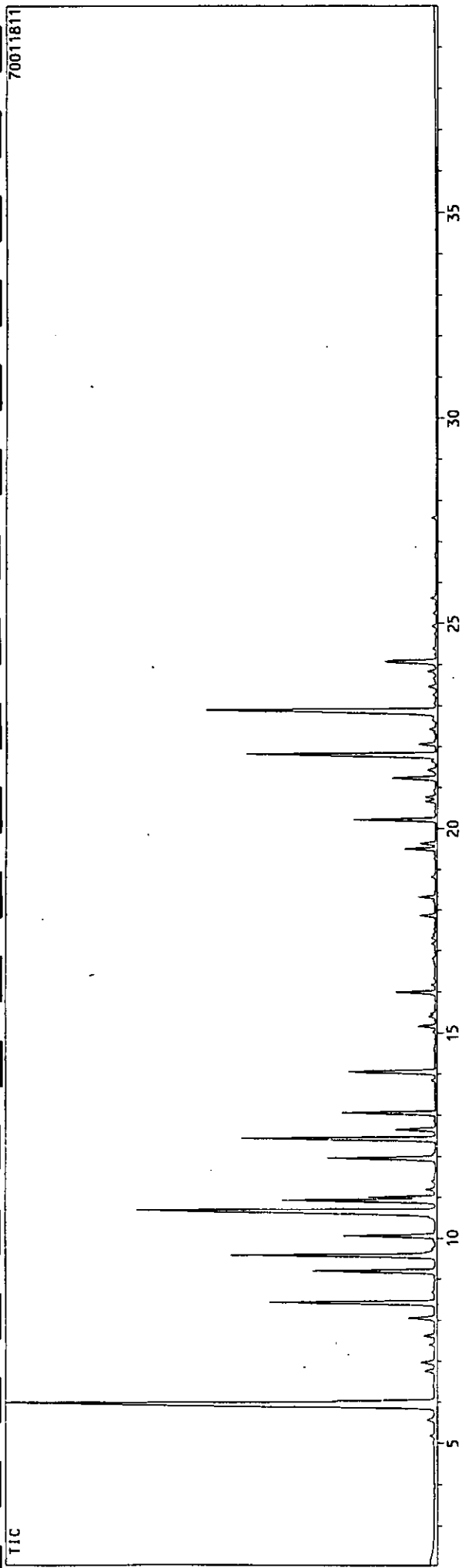
Method File Name : PAGULA1.MET

Vial No. : 0

Barcode :

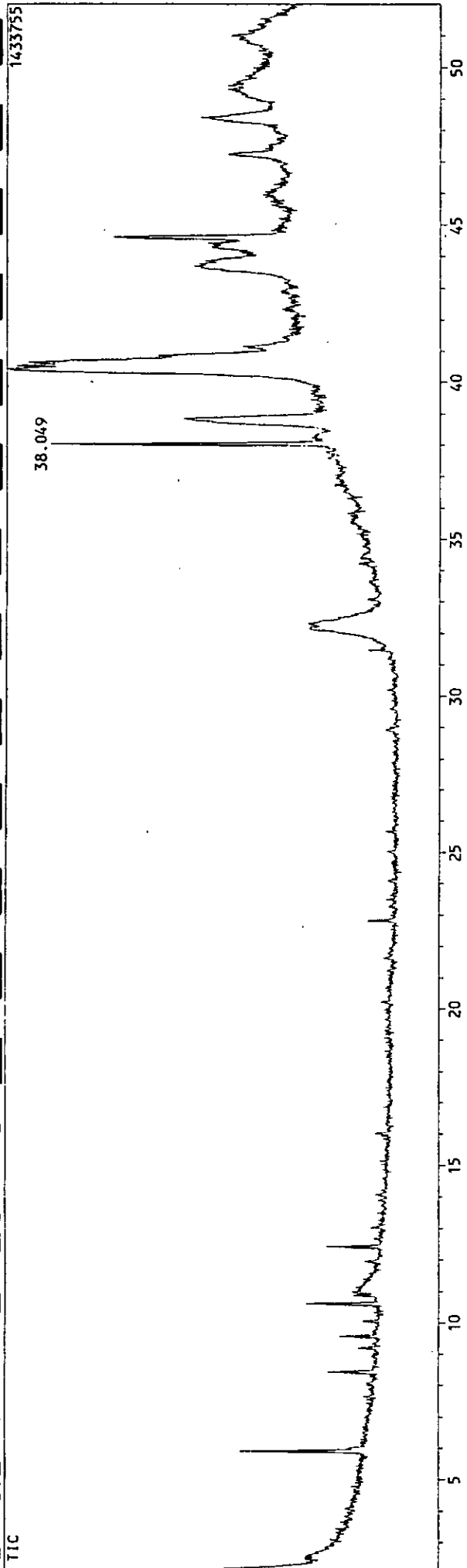
70011811

TIC



17

\*\*\* CLASS-5000 \*\*\* Report No. = 1 Data : \_DEFAULT.D30 00/03/09 12:04:51  
Sample : Cupressus-vapor(DBMAX)  
ID : SPME  
Sample Amount : 0  
Dilution Factor : 0  
Type :  
Operator : Pagula  
Method File Name : PAGULA1.MET  
Vial No. : 0  
Barcode :

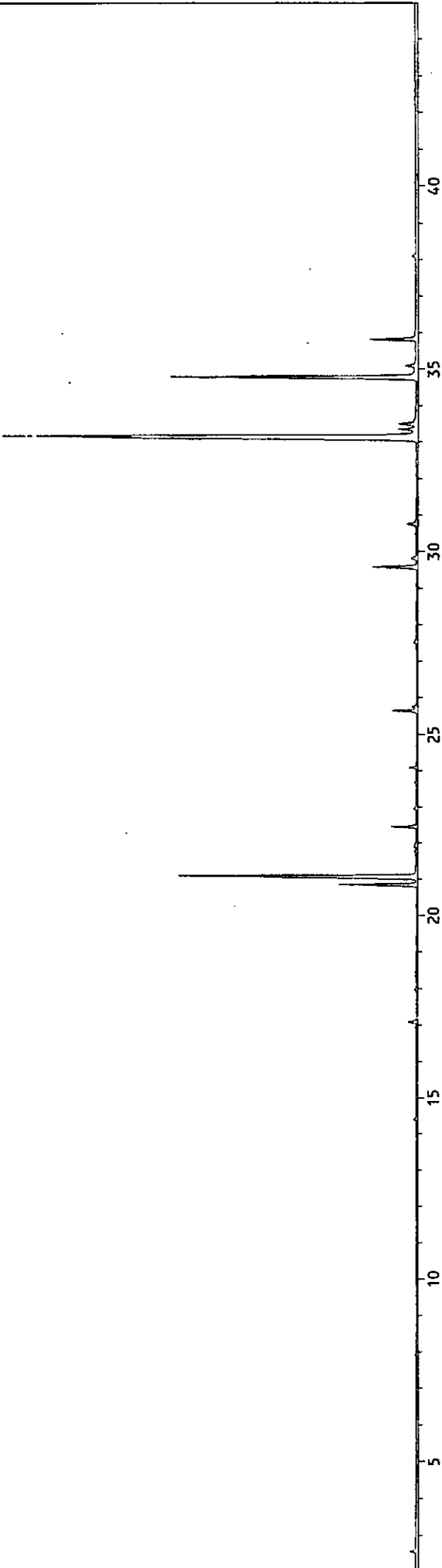


\*\*\* CLASS-5000 \*\*\* Report No. = 1 Data : \_DEFAULT.D27 00/03/01 11:38:11

Sample : cupressus (agua)DBMAX  
ID : SPME(extracto)  
Sample Amount : 0  
Dilution Factor : 0  
Type :  
Operator : Pagula  
Method File Name : PAGULA1.MET  
Vial No. : 0  
Barcode :

TIC

69846852



\*\*\* CLASS-5000 \*\*\* Report No. = 1 Data : \_DEFAULT.D07 00/02/01 16:55:02

Sample : cupressus oil-1( DB5)

ID : SPME

Sample Amount : 1

Dilution Factor : 1

Type : Unknown

Operator : Pagula

Method File Name : PAGULA1.MET

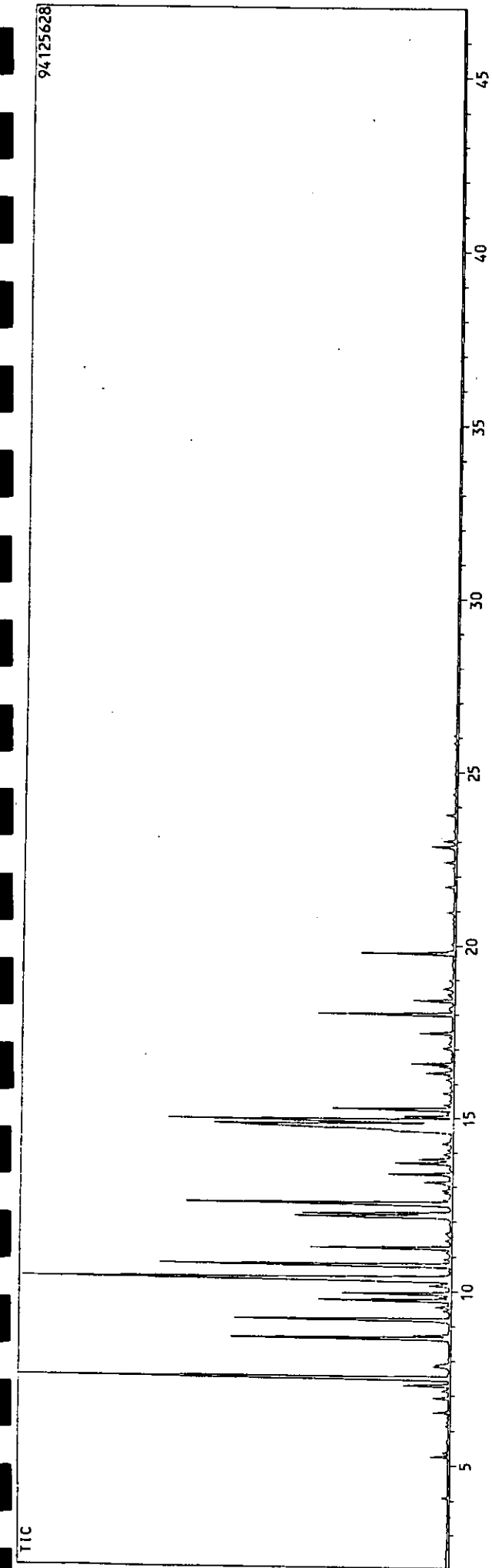
Vial No. : 1

Barcode :



TIC

94125628



\*\*\* CLASS-5000 \*\*\* Report No. = 1 Data : \_DEFAULT.D05 00/01/25 10:07:25

Sample : cupressus folha fresca( 085)

ID : SPME

Sample Amount : 1

Dilution Factor : 1

Type : Unknown

Operator : Pagula

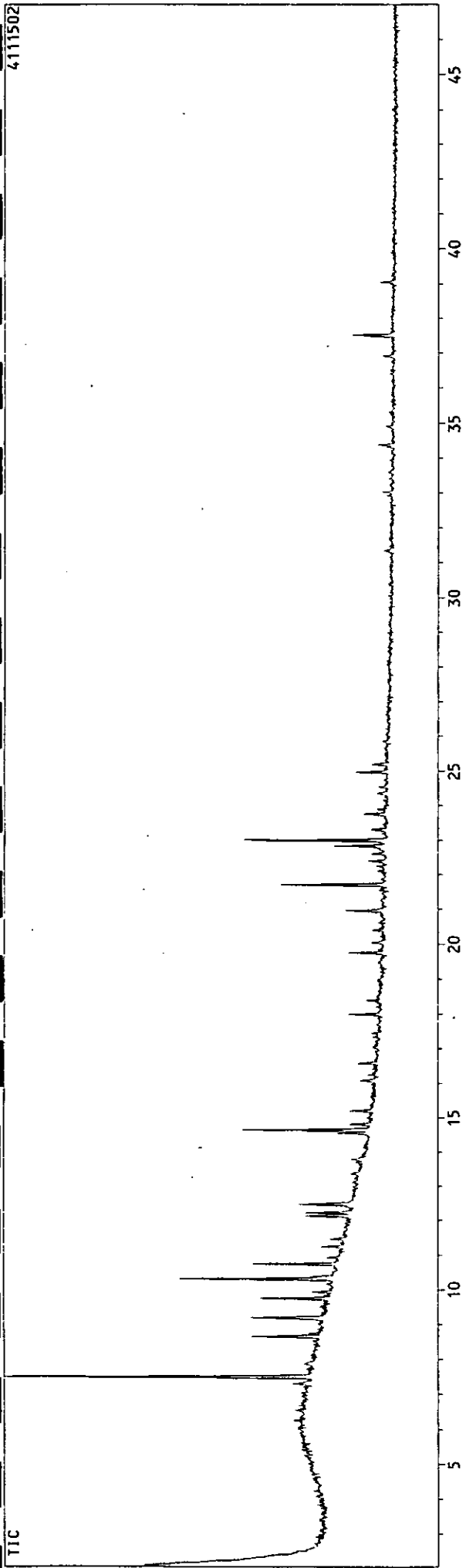
Method File Name : PAGULA1.MET

Vial No. : 1

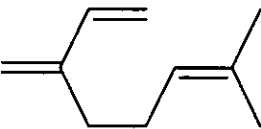
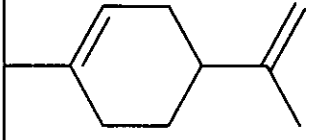
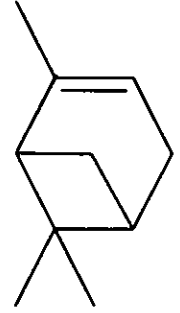
Barcode :

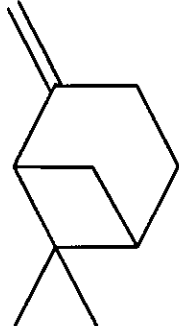
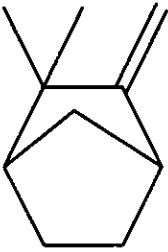
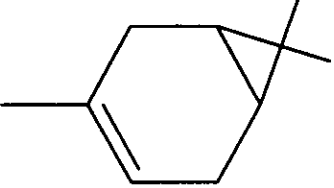
4111502

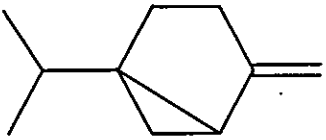
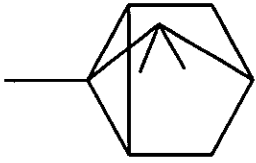
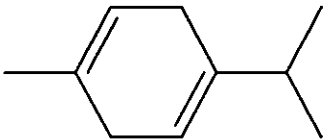
TIC

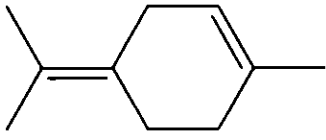
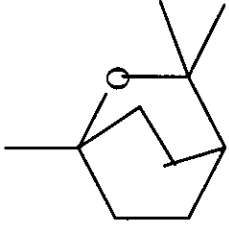
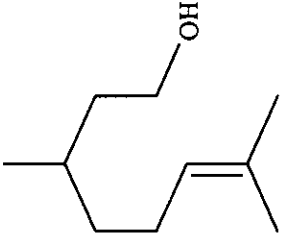


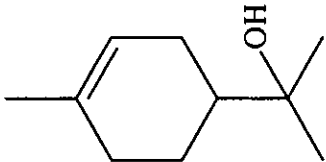
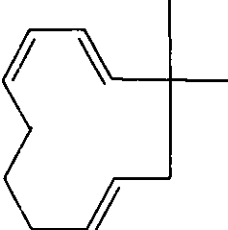
## Compostos identificados

Compostos identificados	Nomes	Pico de base	Fragmentações mais salientes no espectro	intensidade de alguns íons analíticos
	Mirceno 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno	m/z: 41	m/z: 93; m/z: 69	m/z: 136(2,0) m/z:121(2,0) m/z: 94(5,2) m/z:91(10,0) m/z: 79(11,2) m/z:77(10,0) m/z: 69(64,0) m/z: 41(100,0) m/z: 39(16,0)
	Limoneno 1-metil-4-(1-metiletenil)-ciclohexeno	m/z: 68	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 108; m/z: 94; m/z: 93; m/z: 79; m/z: 67; m/z: 53; m/z: 41 e m/z: 39	m/z: 136(26,8) m/z:121(26,0) m/z: 94(36,0) m/z:91(33,6) m/z: 79(46,0) m/z:77(26,4) m/z: 69(6,8) m/z: 41(23,6) m/z: 39(28,4)
	$\alpha$ -pineno 2,6,6 trimetil biciclo [3.1.1] 2-hepteno	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 105; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 67; m/z: 53; m/z: 41 m/z: 39	m/z: 136(8,4) m/z:121(10,4) m/z: 94(8,8) m/z:91(42,8) m/z: 79(24,4) m/z:77(30,8) m/z: 69(0,8) m/z: 41(20,8) m/z: 39(21,2)

	<p><math>\beta</math>-pineno 6,6 dimetil 2-metileno biciclo [3.1.1] heptano</p>	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 105; m/z: 94; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 69; m/z: 67; m/z: 55; m/z: 53; m/z: 41 e m/z: 39	m/z: 136(8,4) m/z:121(11,2) m/z: 94(12,8) m/z:91(20,8) m/z: 79(25,2) m/z:77(23,6) m/z: 69(44,8) m/z: 41(76,8) m/z: 39(38,8)
	<p>Canfeno 2,2 dimetil 3-metileno biciclo [2.2.1] heptano</p>	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 107; m/z:95; m/z: 94; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 79; m/z:77; m/z: 68; m/z: 67; m/z: 55; m/z: 53; m/z: 41; m/z: 39 e m/z: 27	m/z: 136(14,4) m/z:121(62,8) m/z: 94(16,8) m/z:91(22,0) m/z: 79(37,6) m/z:77(23,2) m/z: 69(9,6) m/z: 41(58,8) m/z: 39(51,6)
	<p><math>\Delta^3</math> - careno 3,7,7 trimetil biciclo [4.1.0] hept-3-eno</p>	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 105; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 80; m/z: 79; m/z:77; m/z: 41; m/z: 39.	m/z: 136(14,4) m/z:121(17,2) m/z: 94(10,0) m/z:91(28,8) m/z: 79(27,6) m/z:77(28,8) m/z: 69(8,4) m/z: 41(36,8) m/z: 39(30,0)

	Sabineno	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 94; m/z: 91; m/z: 80; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 69; m/z: 67; m/z: 53; m/z: 41; m/z: 39 e m/z: 27	m/z: 136(12,4) m/z: 121(6,0) m/z: 94(14,4) m/z: 91(43,6) m/z: 79(27,2) m/z: 77(42,8) m/z: 69(9,6) m/z: 41(32,4) m/z: 39(22,0)
	Triciclono 1,7,7 trimetil triciclo [2,2,1,0(2,6)] heptano	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 105; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 80; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 67; m/z: 58; m/z: 41; m/z: 39 e m/z: 27	m/z: 136(14,8) m/z: 121(22,0) m/z: 94(8,4) m/z: 91(22,8) m/z: 79(22,8) m/z: 77(20,4) m/z: 69(1,2) m/z: 41(27,6) m/z: 39(23,6)
	$\gamma$ -terpineno 1-metil-4isopropil-1,4 hexadieno	m/z: 93	m/z: 136; m/z: 121; m/z: 92; m/z: 91; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 43; m/z: 41; m/z: 39	m/z: 136(28,8) m/z: 121(26,8) m/z: 94(9,2) m/z: 91(32,8) m/z: 79(19,6) m/z: 77(31,6) m/z: 69(0,0) m/z: 41(21,2) m/z: 39(23,2)

	<p><math>\alpha</math>-terpinoleno</p> <p>1-metil-4-(1-isopropileno)-ciclohexeno</p>	m/z: 93	<p>m/z: 136, m/z: 121, m/z: 107, m/z: 105; m/z: 94; m/z: 92, m/z: 91; m/z: 79; m/z: 77; m/z: 66; m/z: 55; m/z: 53; m/z: 43; m/z: 41 e m/z: 39</p>	<p>m/z: 136(67,2) m/z: 121(78,0) m/z: 94(10,8) m/z: 91(48,4) m/z: 79(47,2) m/z: 77(35,2) m/z: 69(2,0) m/z: 41(45,2) m/z: 39(43,2)</p>
	1,8 cineol	m/z: 43	<p>m/z: 154; m/z: 139; m/z: 111; m/z: 108; m/z: 96; m/z: 92; m/z: 84; m/z: 81; m/z: 61; m/z: 59; m/z: 55; m/z: 41 e m/z: 39.</p>	<p>m/z: 136(2,4) m/z: 121(2,8) m/z: 94(2,8) m/z: 91(2,4) m/z: 79(6,4) m/z: 77(4,0) m/z: 69(29,2) m/z: 41(32,4) m/z: 39(22,0)</p>
	<p>Citronelol</p> <p>3,7 dimetil 6- octen-1-ol</p>	m/z: 41	<p>m/z: 138; m/z: 123; m/z: 109; m/z: 95; m/z: 82; m/z: 67; m/z: 69; m/z: 55; m/z: 39; m/z: 31.</p>	<p>m/z: 136(0,0) m/z: 121(0,0) m/z: 94(1,2) m/z: 91(1,2) m/z: 79(3,2) m/z: 77(2,0) m/z: 69(71,2) m/z: 41(100) m/z: 39(25,2)</p>

	<p><math>\alpha</math>-terpineol</p>	<p>m/z: 59</p>	<p>m/z: 136; m/z: 121; m/z: 107; m/z: 93; m/z: 81; m/z: 71; m/z: 59; m/z: 43; m/z: 41.</p>	<p>m/z: 136(39,2) m/z: 121(55,2) m/z: 94(14,0) m/z: 91(9,2) m/z: 79(21,2) m/z: 77(13,2) m/z: 69(14,49) m/z: 41(26,4) m/z: 39(17,2)</p>
	<p>Cariofileno 4, 11, 11 trimetil 8-metileno biciclo [7.2.0] undec-4-eno</p>	<p>m/z: 41</p>	<p>m/z: 204; m/z: 189; m/z: 161; m/z: 147; m/z: 133; m/z: 120; m/z: 105; m/z: 93; m/z: 79; m/z: 69; m/z: 55; m/z: 39.</p>	<p>m/z: 136(6,4) m/z: 121(21,6) m/z: 94(16,4) m/z: 91(49,2) m/z: 79(52,4) m/z: 77(26,4) m/z: 69(82,0) m/z: 41(100) m/z: 39(35,2)</p>



## Iões metastáveis de alguns compostos identificados

compostos	Picos metastáveis													
	107,6	103,3	89,2	84,3	75,1	71,5	66,4	63,8	51,6	46,6	37,2	37,0	24,3	
Mirceno			☉					☉						☉
Limoneno			☉		☉			☉						
α-pineno			☉		☉			☉						
β-pineno	☉	☉	☉	☉	☉	☉		☉		☉		☉		☉
Canfeno			☉		☉			☉						
Δ <sup>3</sup> -careno	☉		☉		☉			☉						
Sabineno	☉		☉	☉	☉	☉	☉	☉		☉		☉		
Triciclono														
γ-terpineno	☉		☉		☉			☉						
α-terpinoleno			☉		☉			☉						
1,8 cineol														
Citronelol														☉
α-terpeniol •														
Isopulegol •														

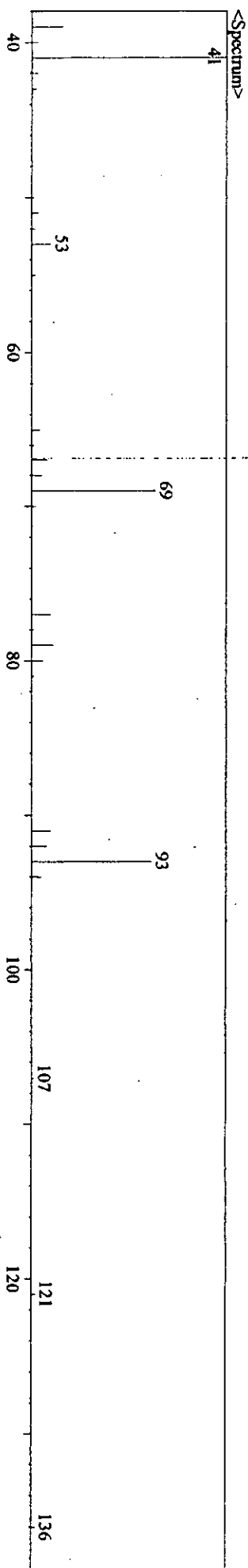
• Compostos sem iões metastáveis ☉ Picos metastáveis

## Reações de fragmentações características para os picos metastáveis

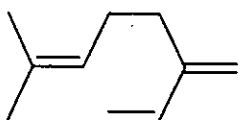
Picos metastáveis	Fragmentação que ocorre	Picos metastáveis	Fragmentação que ocorre
107,6	136 <sup>+</sup> → 121 <sup>+</sup> + 15	63,8	136 <sup>+</sup> → 93 <sup>+</sup> + 43
103,3	136 <sup>+</sup> → 105 <sup>+</sup> + 2	58,3	107 <sup>+</sup> → 79 <sup>+</sup> + 28
89,2	93 <sup>+</sup> → 91 <sup>+</sup> + 2	51,6	121 <sup>+</sup> → 79 <sup>+</sup> + 42
84,3	136 <sup>+</sup> → 107 <sup>+</sup> + 29	46,6	91 <sup>+</sup> → 65 <sup>+</sup> + 26
75,1	79 <sup>+</sup> → 77 <sup>+</sup> + 2	37,2	121 <sup>+</sup> → 67 <sup>+</sup> + 54
71,5	121 <sup>+</sup> → 93 <sup>+</sup> + 28	37,0	121 <sup>+</sup> → 67 <sup>+</sup> + 54
66,4	93 <sup>+</sup> → 78 <sup>+</sup> + 15	24,3	69 <sup>+</sup> → 41 <sup>+</sup> + 28

<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19324  
CAS : 123-35-3 Mol.Wgt : 136  
Mol.Form : C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-METHYL-6-METHYLENE-2,7-OCTADIENE \$\$ 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE \$\$ Myrcene \$\$



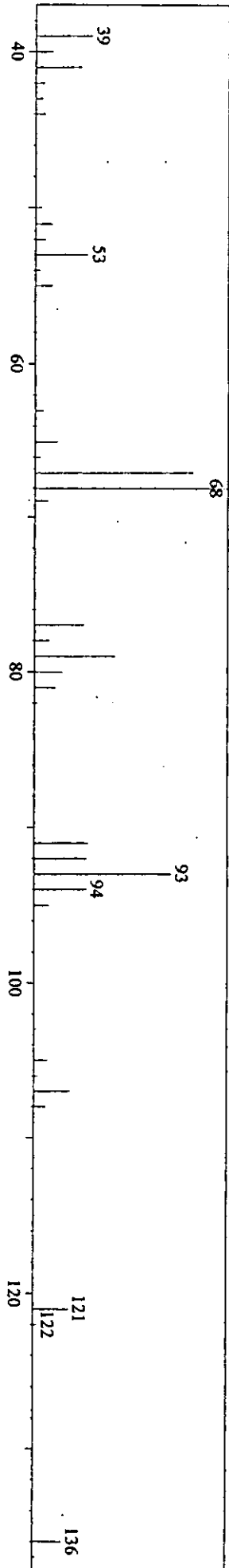
<Structure>



<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19686  
CAS : 5989-54-8 Mol.Wt. : 136  
Mol.Form. : C10 H16  
Name : 1-LIMONENE S5

<Spectrum>

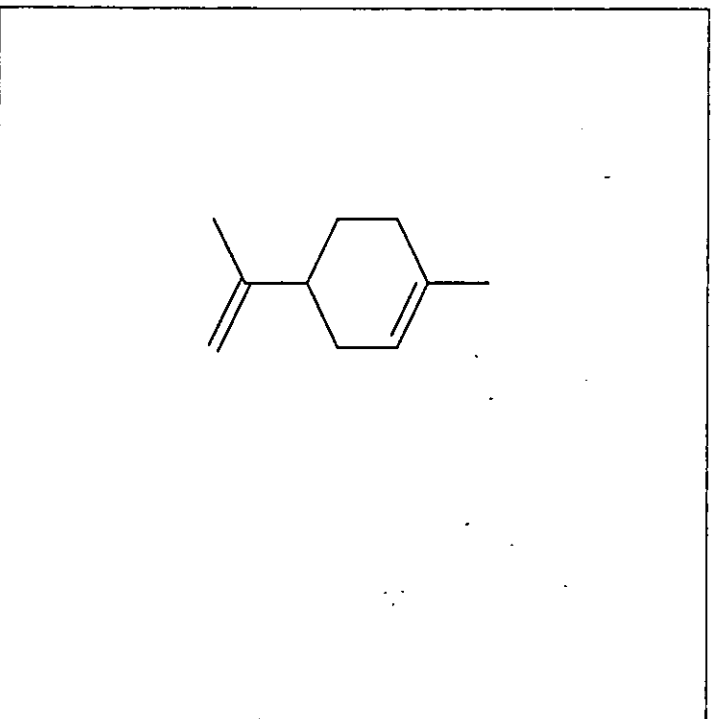


<Mass Table>

M/Z - Rel.Int (50 Peaks)

M/Z	Rel.Int
38	0.8
39	28.8
40	8.8
41	23.6
42	4.4
43	3.6
44	5.2
50	3.2
51	8.8
52	5.2
53	26.8
54	2.4
55	8.8
57	0.4
58	0.8
62	0.8
63	4.0
64	0.4
65	11.2
66	2.8
67	81.6
68	100.0
69	6.8
70	0.4
77	25.2
78	7.6
79	41.6
80	14.0
81	10.8
82	1.6
89	0.4
91	27.6
92	26.4
93	70.4
94	26.4
95	7.6
96	0.2
103	1.2
104	0.4
105	6.8
106	2.0
107	18.4
108	6.0
109	0.4
115	0.8
119	0.8
121	18.0
122	2.0
136	14.8
137	1.6

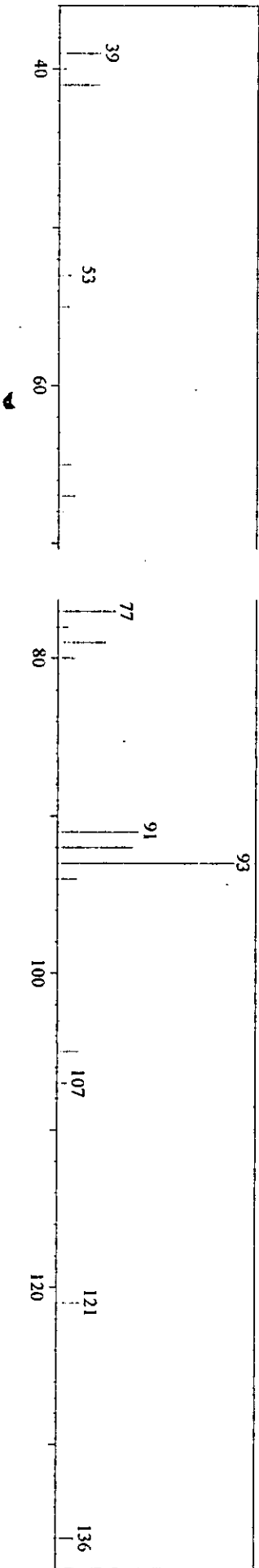
<Structure>



<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19627  
CAS : 80-56-8 Mol.Wt. : 136  
Mol.Form. : C10 H16  
Name : alpha-pipecene SS .alpha-pipecene SS

<Spectrum>

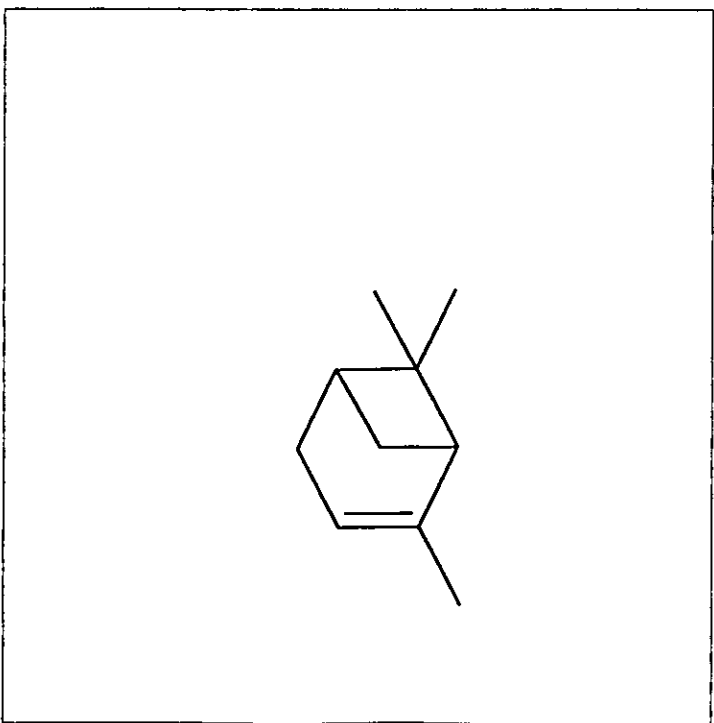


<Structure>

<Mass Table>

M/Z - Rel.Int (50 Peaks)

37-0.4	63-2.0	93-100.0
38-1.2	64-0.4	94-9.6
39-20.8	65-6.4	95-1.2
40-3.6	66-1.6	103-2.0
41-20.4	67-8.4	104-0.4
42-1.2	68-3.6	105-10.8
43-7.6	69-0.8	106-2.4
50-2.0	74-0.4	107-5.2
51-6.8	77-28.8	108-1.2
52-2.8	78-4.8	115-0.8
53-9.2	79-24.0	117-0.4
54-1.2	80-9.2	119-2.0
55-5.6	81-2.8	121-11.6
56-0.4	82-0.4	122-1.2
57-0.4	89-0.4	136-9.2
58-0.8	91-41.2	137-1.2
62-0.8	92-38.0	

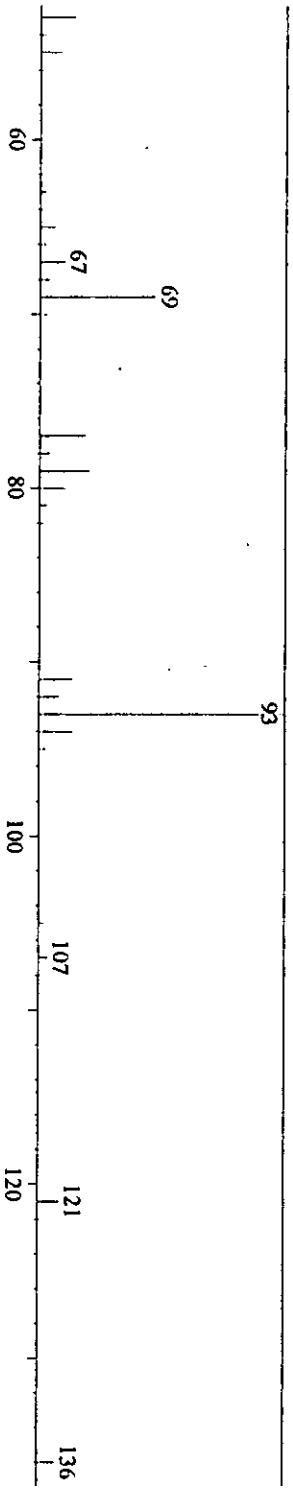
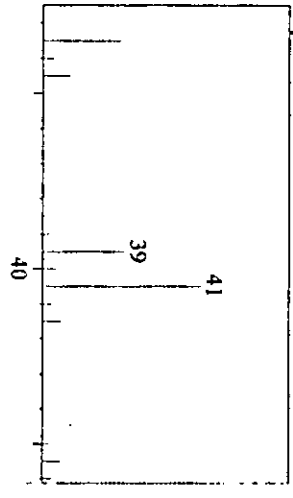


<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19553  
CAS : 127-91-3 Mol.Wt. : 136  
Mol.Form.: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : 2-BETA-PINENE \$\$\$ Bicyclo[3.1.1]h

epiane, 6,6-dimethyl-2-methylene- (CAS) .beta.-Pinene \$\$\$ Nopinene \$\$\$ Nopinene \$\$\$ Pseudopinene \$\$\$ Pseudopinene \$\$\$ 2(10)-Pinene \$\$\$ Terebenthene \$\$\$ BETA-)

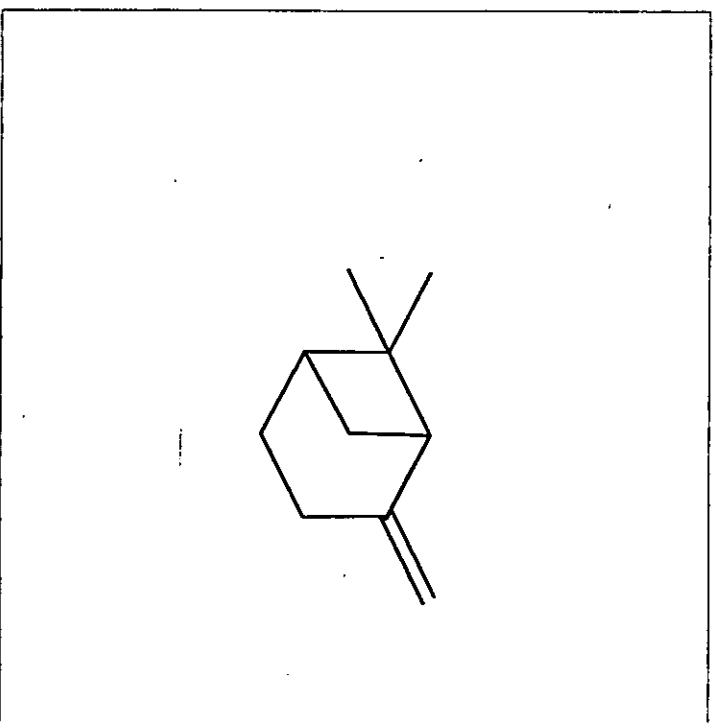
<Spectrum>



<Mass Table>

M/Z	Rel.Int	(50 Peaks)
26-2.0	56-0.8	91-13.2
27-31.6	58-0.4	92-8.0
28-4.4	62-0.8	93-100.0
29-10.8	63-2.0	94-13.6
37-0.8	64-0.8	95-2.8
38-2.4	65-6.0	103-0.4
39-33.2	66-2.4	105-2.0
40-5.6	67-10.0	106-0.4
41-64.0	68-3.6	107-3.6
42-3.2	69-46.8	108-1.2
43-7.2	70-2.8	119-0.4
50-2.4	77-18.4	121-8.8
51-7.2	78-4.0	122-0.8
52-3.6	79-20.0	122-0.8
53-14.0	80-10.4	136-7.2
54-2.0	81-3.2	137-0.8
55-8.4	82-1.6	

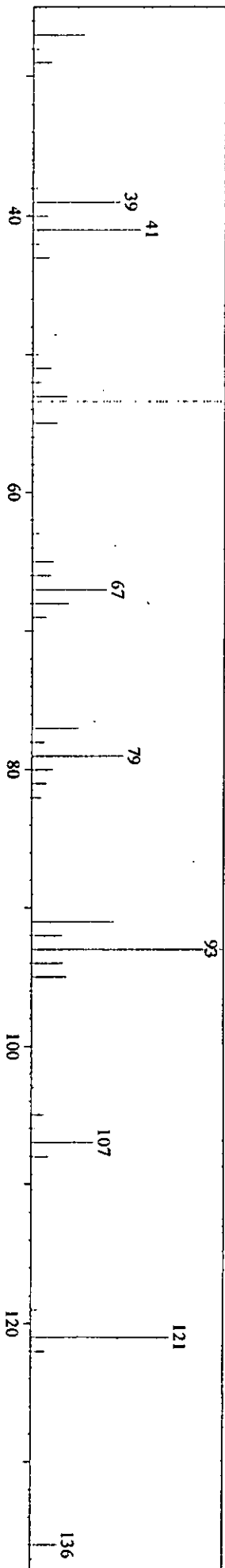
<Structure>



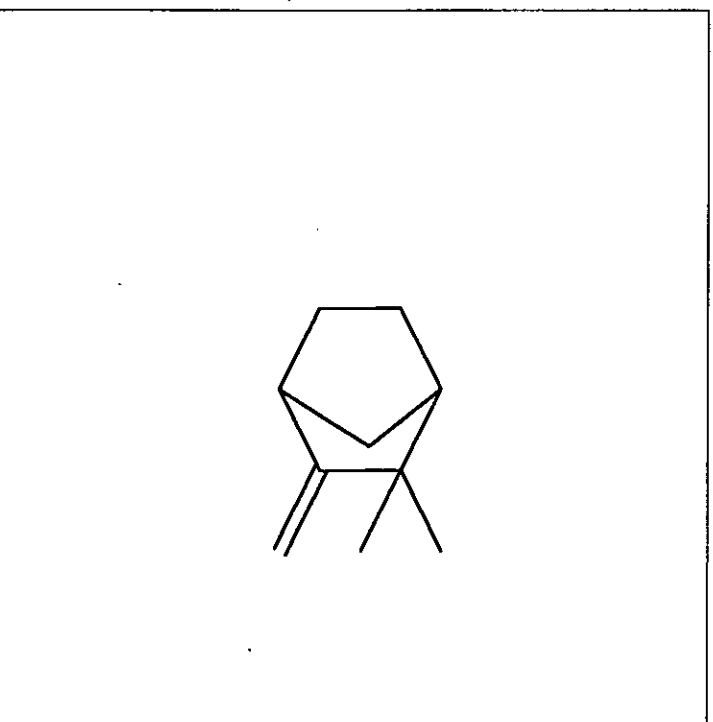
<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19503  
CAS : 79-92-5 Mol.Wt. : 136  
Mol.Form. : C10 H16  
Name : Camphene \$S\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$S\$ 2,2-Dimethyl-3-methylenenorbornane \$S\$ 3,3-Dimethyl-2-methylenecamphane \$S\$ 2,2-Dimethylbicyclo[2.2.1]heptane \$S\$

<Spectrum>



<Structure>



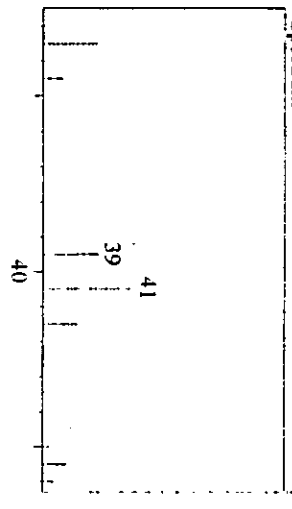
<Mass Table>

M/Z	Rel.Int	(50 Peaks)
26	1.6	58-1.2
27	26.4	62-1.2
28	2.8	63-3.6
29	9.6	64-1.2
38	2.4	65-11.2
39	45.2	66-9.6
40	8.0	67-38.8
41	56.0	68-18.8
42	3.2	69-7.6
43	8.4	70-1.6
50	2.8	77-24.0
51	10.0	78-6.4
52	4.4	79-47.6
53	18.0	80-10.8
54	2.4	81-7.6
55	12.8	82-4.8
56	1.6	89-1.6

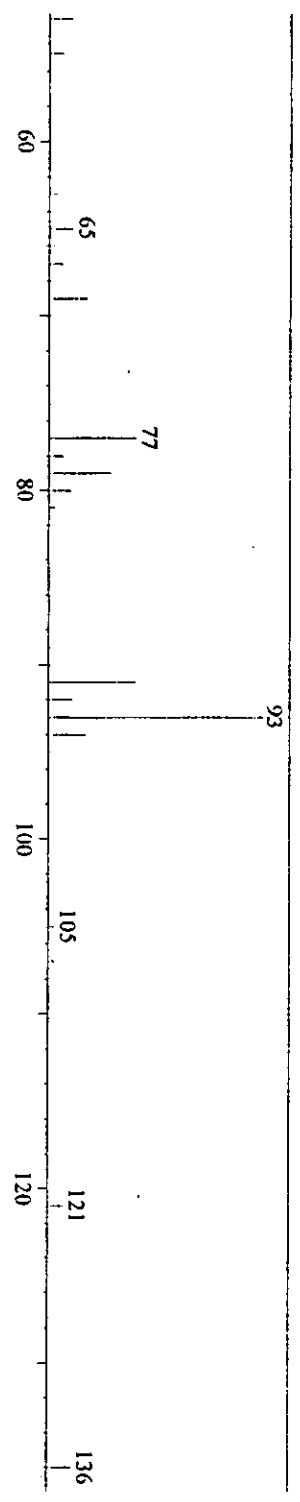
<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19529  
CAS : 3387-41-5 Mol.Wgt. : 136  
Mol.Form. : C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : Sabinene **SS** Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-n

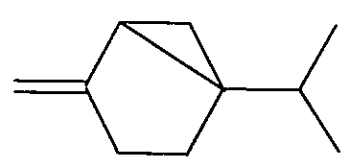
<Spectrum>



ethylene-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4(10)-Thujene **SS** Sabinen **SS** 1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexane **SS**



<Structure>



<Mass Table>

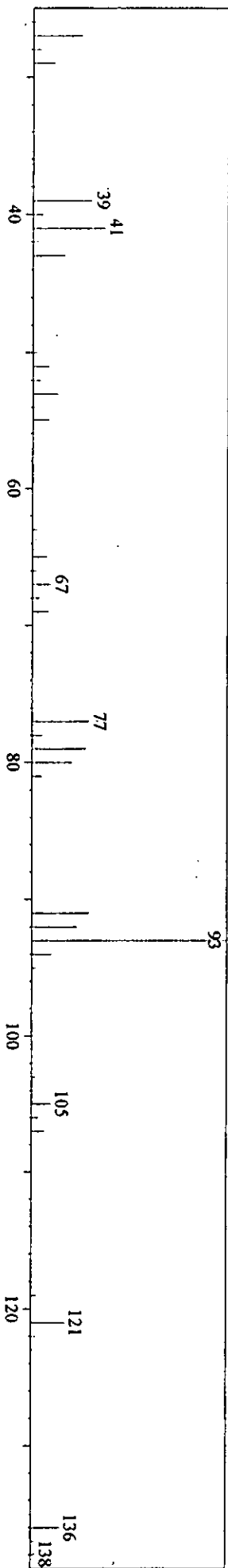
M/Z - Rel.Int (50 Peaks)

26-1.2	62-1.2	89-1.6
27-22.0	63-3.2	90-0.8
28-1.6	64-0.8	91-35.6
29-8.4	65-9.6	92-9.6
37-0.4	66-2.8	93-100.0
38-2.0	67-5.6	94-15.2
39-22.8	68-1.6	95-1.2
40-3.6	69-15.6	103-0.8
41-37.6	70-0.8	105-2.4
42-2.0	74-0.4	107-2.4
43-14.0	75-0.8	108-0.8
50-2.8	77-35.6	119-0.8
51-9.6	78-6.0	121-6.4
52-4.4	79-25.2	122-0.8
53-9.2	80-10.0	136-10.0
54-1.6	81-2.4	137-1.2
55-5.6	82-0.8	

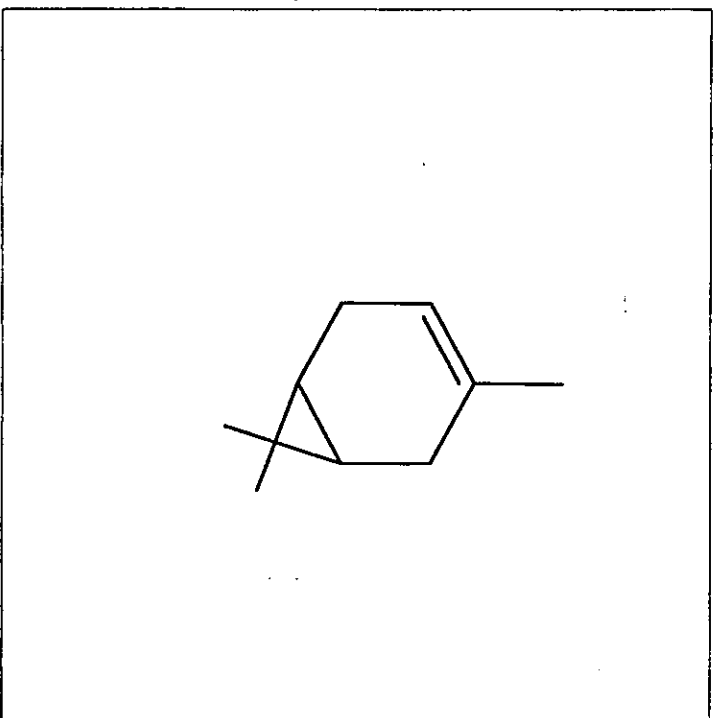
<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19575  
CAS : 1346-78-9 Mol Wgt : 136  
Mol Form: C10H16  
Name : DELTA-3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS) (+)-3-CARENE  $\delta$ -delta-3-carene  $\delta$ -3-Carene  $\delta$ -DELTA(sup3)-Carene  $\delta$ -CAR-3-ENE  $\delta$ -D-3-carene  $\delta$

<Spectrum>



<Structure>



<Mass Table>

M/Z	Rel Int	(48 Peaks)
26	1.6	63-2.4 103-1.6
27	24.8	65-7.2 104-0.2
28	4.0	66-2.0 105-9.6
29	11.2	67-9.2 106-3.2
38	2.0	68-3.6 107-6.4
39	30.0	69-8.4 108-0.4
40	4.8	77-28.8 109-0.2
41	36.8	78-5.2 118-0.8
42	2.4	79-27.6 119-2.4
43	16.4	80-20.4 120-0.4
50	2.4	81-5.2 121-17.2
51	8.4	91-28.8 122-2.0
52	4.0	92-22.8 123-0.2
53	12.8	93-100.0 136-14.4
54	1.6	94-10.0 137-1.6
55	8.4	95-2.0 138-0.2

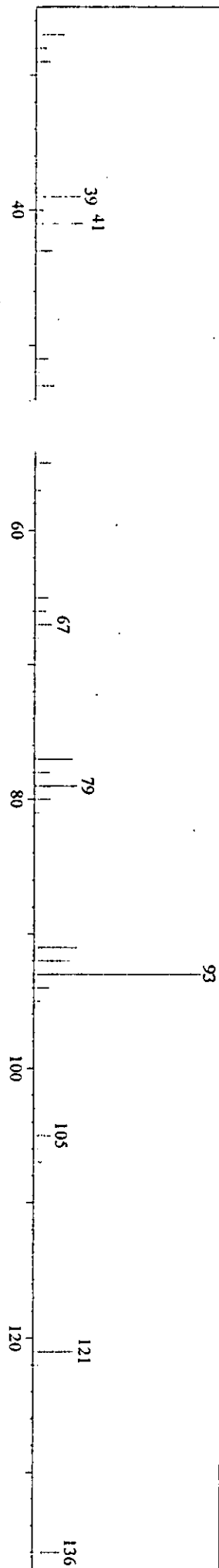


<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19604  
CAS : 508-32-7 Mol.Wgt. : 136  
Mol.Form.: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : Tricyclics Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptan  
\$\$ Cyclics \$\$

1,7,7-trimethyl-(CAS) 1,7,7-Trimethyltricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane. 1,7,7-trimethyl- \$\$ 1,7,7-Trimethyltricyclo[2.2.1.0(2,6)

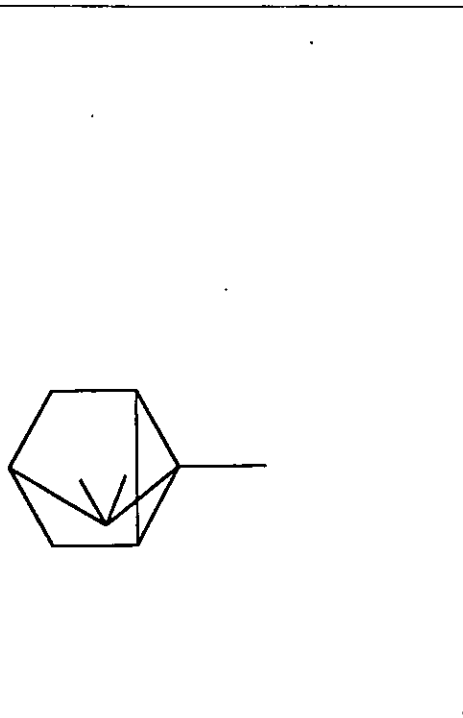
<Spectrum>



<Mass Table>

M/Z	Rel.Int	(50 Peaks)
26	0.8	58-0.8 92-19.2
27	14.8	63-2.8 93-100.0
28	5.6	65-7.6 94-8.4
29	7.2	66-6.8 95-3.2
38	0.8	67-9.6 103-1.6
39	23.6	68-2.0 105-9.2
40	4.4	69-1.2 106-2.8
41	27.6	70-2.4 107-4.8
42	2.4	72-0.8 108-1.6
43	8.8	77-20.4 117-0.8
50	1.6	78-8.0 119-2.0
51	6.4	79-22.8 120-0.4
52	2.8	80-8.4 121-22.0
53	10.4	81-2.8 122-2.4
54	1.2	82-0.4 136-14.8
55	8.8	89-1.2 137-1.6
57	3.2	91-22.8

<Structure>

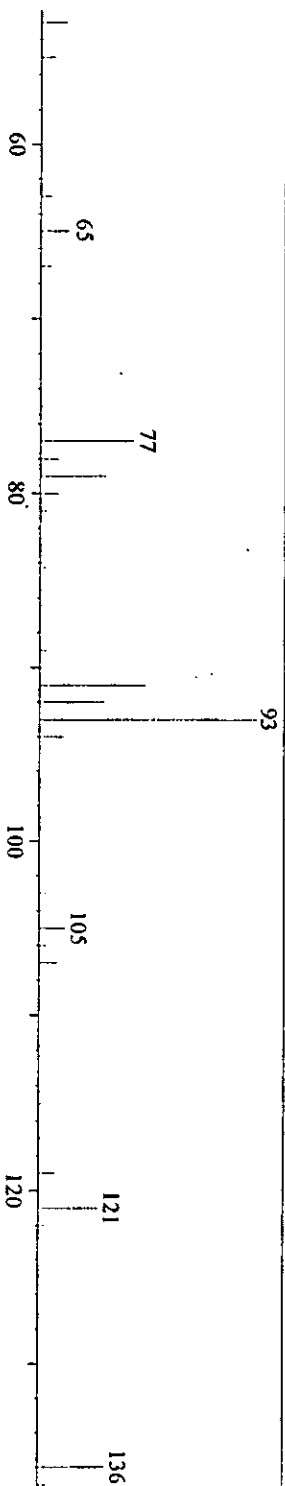
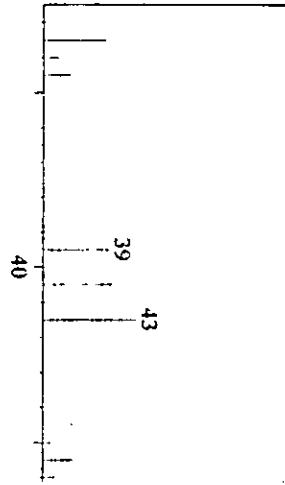


<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19396  
CAS : 99-85-4 Mol.Wt. : 136  
Mol.Form. : C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : .gamma-Terpinene \$\$ 1,4-Cyclohexadiene  
4-cyclohexadiene \$\$ 1-Methyl-4-isopropyl-

ene, 1-methyl-4-(1-methyl-4-(1-isopropyl-4-methyl-1,4-cyclohexadiene \$\$ Moslene \$\$ Citlimene \$\$ p-Mentha-1,4-diene \$\$ .gamma-  
1,1,4-cyclohexadiene \$\$ GAMMA-TERPINENE \$\$ 1,4-P-MENTHADIENE \$\$

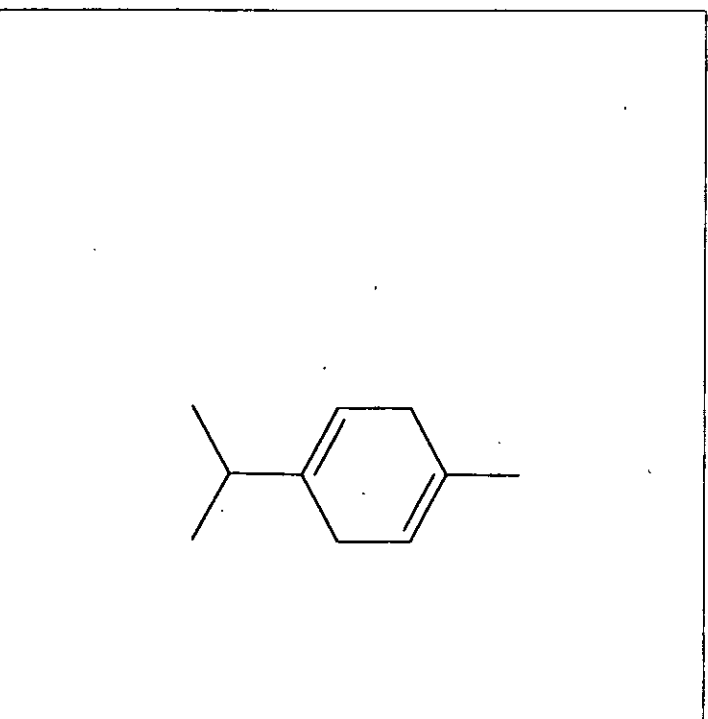
<Spectrum>



<Mass Table>

M/Z	Rel.Int	(50 Peaks)
26	1.2	58-1.2 92-26.0
27	25.2	59-0.8 93-100.0
28	6.0	62-1.6 94-10.0
29	11.2	63-4.4 103-2.8
32	1.6	64-2.0 104-1.2
38	2.0	65-12.0 105-10.4
39	26.4	66-1.6 106-2.8
40	3.2	67-4.0 107-7.2
41	28.0	75-1.2 108-1.6
42	1.6	77-38.0 115-1.6
43	37.6	78-7.6 117-1.6
50	3.2	79-26.4 119-6.4
51	12.0	80-7.6 121-24.0
52	4.8	81-2.4 122-2.8
53	10.4	89-2.8 136-26.8
54	0.8	90-1.2 137-3.2
55	5.6	91-42.8

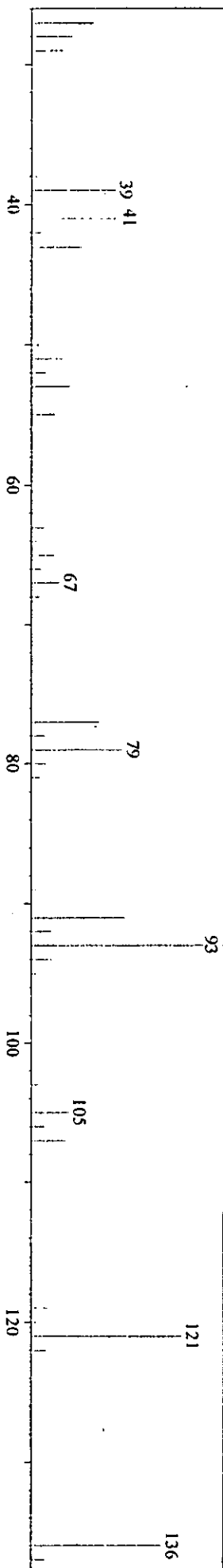
<Structure>



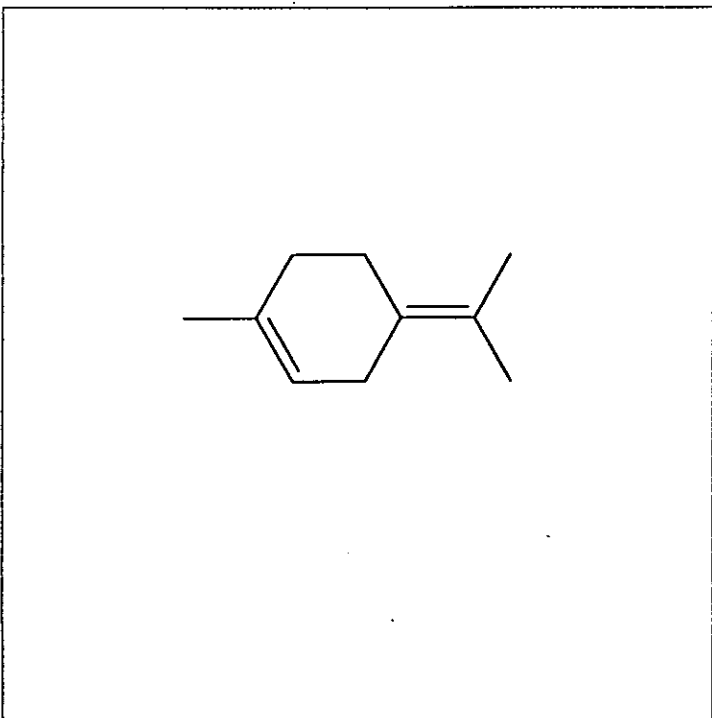
<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 19443  
CAS : 586-62-9 Mol.Wgt. : 136  
Mol.Form.: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>  
Name : alpha-terpinolene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-(CAS) 1,4(8)-P-MENTHADIENE \$\$ 1-METHYLENE-4-ISOPROPYLENECYCLOHEXANE \$\$ Terpinolene \$\$ ALPHA-TERPINO  
diene \$\$ 4-Isopropylidene-1-methylcyclohexene \$\$ Isoterpinene \$\$

<Spectrum>



<Structure>

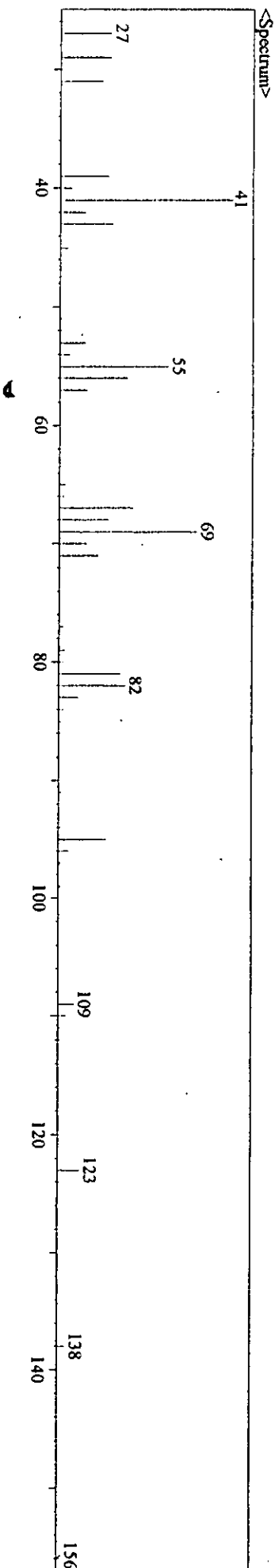


<Mass Table>

M/Z - Rel.Int	(50 Peaks)
27-32.0	64- 2.4 95- 2.4
28-20.8	65-11.6 103- 3.6
29-16.4	66- 4.8 105-19.6
38- 3.2	67-14.8 106- 6.8
39-43.2	68- 4.4 107-17.6
40- 4.8	69- 2.0 108- 3.2
41-45.2	75- 2.4 115- 2.8
42- 4.4	77-35.2 117- 1.6
43-26.4	78- 6.8 119- 8.8
50- 4.0	79-47.2 120- 2.4
51-16.0	80- 7.6 121-78.0
52- 7.2	81- 4.4 122- 8.0
53-20.0	89- 2.4 134- 1.6
55-12.4	91-48.4 135- 1.6
58- 1.6	92-10.4 136-67.6
62- 2.4	93-100.0 137- 7.6
63- 6.4	94-10.8

<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 33237  
CAS : 106-22-9 Mol.Wgt. : 156  
Mol.Form. : C10 H20 O  
Name : beta-Citronellol \$\$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellol \$\$ Rodinalol \$\$ Cepholol \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol \$\$ 2,3-Dihydrogeraniol \$\$ BETA-CITRONELLOL \$\$

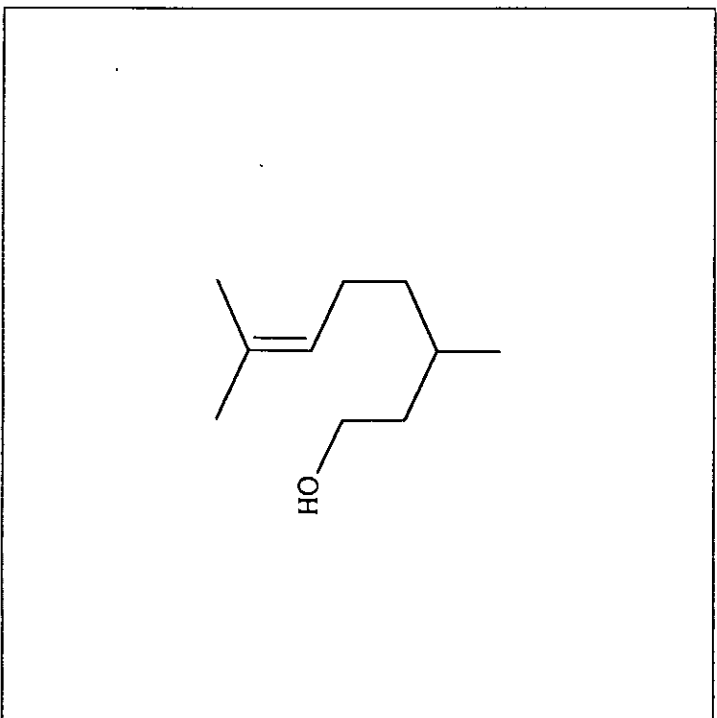


<Mass Table>

M/Z - Rel.Int (50 Peaks)

26-12	57-14.0	85-2.0
27-26.0	58-1.2	86-1.2
29-26.0	65-3.2	91-1.2
30-1.2	66-2.0	94-1.2
31-22.0	67-38.0	95-24.0
39-25.2	68-25.2	96-5.2
40-6.0	69-71.2	97-1.2
41-100.0	70-14.0	99-1.2
42-13.2	71-20.0	109-8.0
43-27.2	72-1.2	110-4.0
45-4.0	77-2.0	111-1.2
51-2.0	79-3.2	112-1.2
52-1.2	80-2.0	123-11.2
53-13.2	81-32.0	124-1.2
54-5.2	82-34.0	138-4.0
55-56.0	83-10.0	156-2.0
56-35.2	84-2.0	

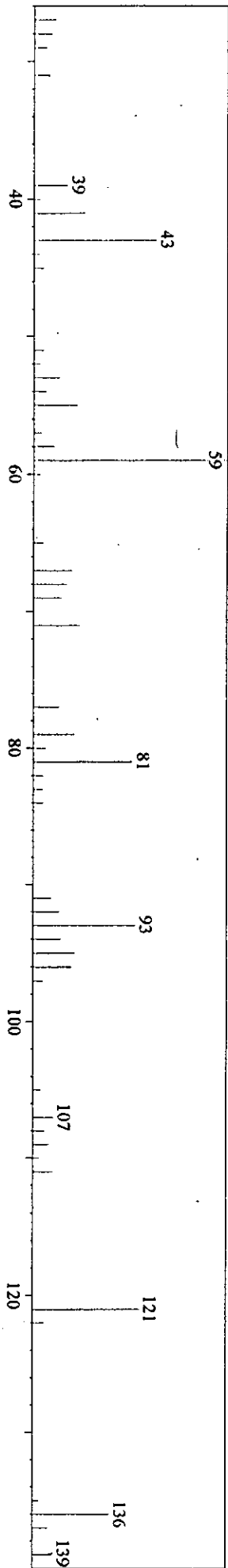
<Structure>



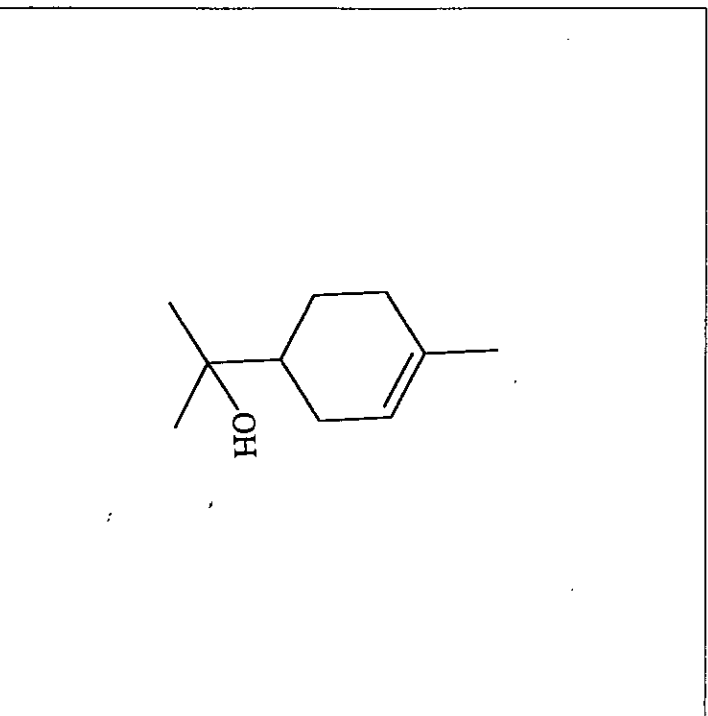
<Compound Information>

Library : WILEY229  
Entry : 31356  
CAS : 10482-56-1 Mol.Wt. : 154  
Mol Form.: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O  
Name : l- $\alpha$ -Terpineol \$\$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol,  $\alpha$ , $\alpha$ , $\alpha$ -4-trimethyl-, (S)- (CAS) (-)- $\alpha$ -Terpineol \$\$\$  $\alpha$ -Terpineol, (-)- \$\$\$ p-Menth-1-en-8-ol, (S)-(-)- \$\$\$ CYCL(-)- $\alpha$ -Terpineol \$\$\$ CYC  
HEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- \$\$\$ ALPHA-TERPINEOL \$\$\$

<Spectrum>



<Structure>



<Compound Information>

Library : WILEY229

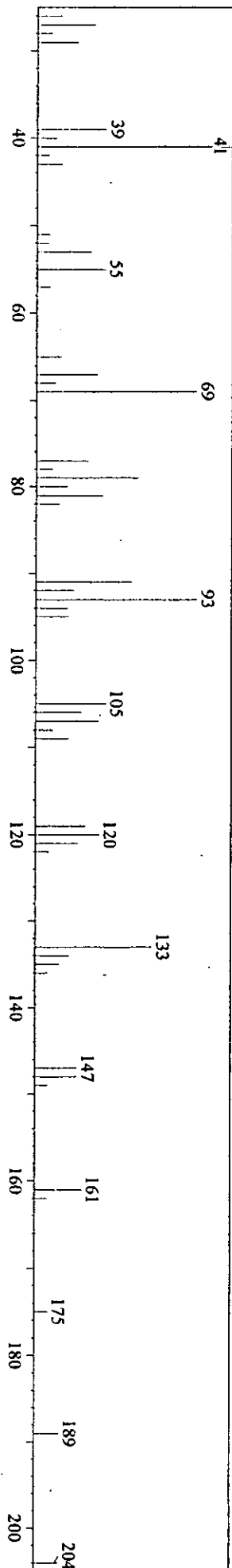
Entry : 70829

CAS : 87-44-5 Mol.Wgt. : 204

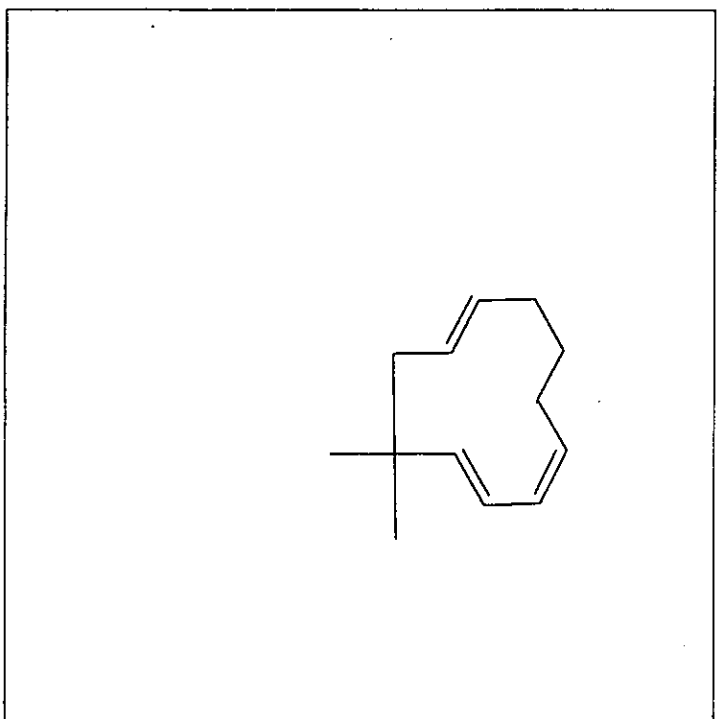
Mol.Form. : C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>

Name : trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [(R-(1R\*,4E,9S\*))]- (CAS) 1-Caryophyllene \$\$ (-)-Caryophyllene \$\$ Caryophyllene \$\$ .beta.-Caryophyllen \$\$ .beta.-Caryo  
\$\$ .beta.-Caryophyllene, (-) \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (E)-(1R,9S)-(-) \$\$ (-)-.beta.-Caryophyllene \$\$ CARYOPHYLLEN \$\$ BETA-CARYOPHYLLENE \$\$ 4,11,11-trim  
[0]undec-4-ene \$\$ .beta.-Caryophyllene, \$\$ (-)-trans-Caryophyllene \$\$

<Spectrum>



<Structure>



<Mass Table>

M/Z - Rel.Int ( 50 Peaks )

26-12.8	69-82.0	119-25.6
27-29.6	77-26.4	120-32.8
28-7.6	78-8.4	121-21.6
29-20.8	79-52.4	122-7.2
39-35.6	80-16.0	133-60.0
40-10.0	81-34.4	134-17.6
41-100.0	82-12.0	135-12.4
42-6.4	91-49.2	136-6.4
43-12.8	92-19.6	147-21.6
51-6.8	93-82.4	148-21.6
52-6.0	94-16.4	149-6.4
53-28.0	95-17.2	161-24.4
55-35.2	105-36.0	162-6.4
57-6.8	106-23.6	175-6.8
65-13.2	107-32.4	189-12.8
67-31.2	108-8.8	204-12.8
68-9.6	109-16.8	

### Glossário

**Microextração em fase sólida (SPME)**- é uma técnica que consiste em submeter a amostra em fase sólida numa pequena placa de aquecimento onde é aquecida e os vapores resultantes desta operação são recolhidos por meio de uma fibra apropriada e analisados em gás cromatógrafo.

**Monoterpenos**- são hidrocarbonetos mais baixos da classe dos terpenos, encontram-se em quase todos os óleos essenciais e em grande número de compostos isolados de produtos animais ou vegetais. Têm esqueleto carbónico formado por unidades de isopreno ligadas regularmente por cabeça-cauda, existindo porém algumas excepções.

**Óleos essenciais**- são misturas complexas de substâncias voláteis, constituídas na sua maioria por hidrocarbonetos e seus derivados oxigenados. Em alguns casos os óleos essenciais podem encontrar-se em gorduras e esteres. Derivam na sua maioria de plantas, mas também podem ser encontrados em organismos vivos como por exemplo fungos e algas.

**Iões metastáveis**- são iões formados a partir da transição  $m_1^+$  para  $m_2^+$  quando esta ocorre depois da câmara de ionização mas antes do detector e do sistema de registo. Estes iões são facilmente notáveis por causa da baixa intensidade e são normalmente difusos.

**Ião parental**- é o ião formado quando é arrancado um electrão a partir da molécula neutra. A energia requerida para este processo é designada potencial de ionização.

**Isótopos**- designam-se isótopos quando um elemento químico apresenta o mesmo número atómico mas diferentes números de massa.