

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FERNANDO APARECIDO DIAS RADOMSKI

FOTOLUMINESCÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS: UM ESTUDO SOBRE SEUS
MECANISMOS E POTENCIAIS APLICAÇÕES

CURITIBA

2020

FERNANDO APARECIDO DIAS RADOMSKI

FOTOLUMINESCÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS:UM ESTUDO SOBRE SEUS
MECANISMOS E POTENCIAIS APLICAÇÕES

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo Ribeiro

Coorientador: Prof. Dr. Celso de Araújo Duarte

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

R131f Radomski, Fernando Aparecido Dias
Fotoluminescência de óleos essenciais: um estudo sobre seus
mecanismos e potenciais aplicações [recurso eletrônico] / Fernando
Aparecido Dias Radomski – Curitiba, 2020.

Dissertação – Universidade Federal do Paraná. Setor de Tecnologia.
Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo Ribeiro

Coorientador: Prof. Dr. Celso de Araújo Duarte

1. Óleos essenciais. 2. Fotoluminescência. 3. Espectroscopia. I.
Universidade Federal do Paraná. II. Ribeiro, Evaldo. III. Duarte, Celso
de Araújo. IV. Título.

CDD: 661.806

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA E
CIÊNCIA DOS MATERIAIS - 40001016033P9

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **FERNANDO APARECIDO DIAS RADOMSKI** intitulada: **Fotoluminescência de óleos essenciais: um estudo sobre seus mecanismos e potenciais aplicações**, sob orientação do Prof. Dr. EVALDO RIBEIRO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2020.

EVALDO RIBEIRO

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

NEY PEREIRA MATTOSO FILHO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RICARDO CANDETE KAMIKAWACHI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico

Ao Fernandinho do passado, que muito almejava este título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família e minha namorada, Jéssica da Silva Santos, por todo o apoio, amor e suporte. Agradeço a CAPES pela minha bolsa de mestrado, ao PIPE e ao departamento de Física da UFPR pela sua estrutura e viabilização do meu projeto. Agradeço aos meus orientadores, professor Celso e professor Evaldo por toda a ajuda e disponibilidade ao longo destes anos. Agradeço também ao professor Eduardo Lemos de Sá pelas diversas colaborações. Agradeço as técnicas Tamires e Franciane, do Departamento de Química da UFPR, pela ajuda, simpatia e disponibilidade na realização dos meus procedimentos de laboratório. Agradeço a professora Giovana Gioppo Nunes, do departamento de Química da UFPR, por ter me disponibilizado as instalações do seu laboratório, bem como seu espectrômetro. Agradeço ao professor Daniel Eiras, do Departamento de Engenharia Química da UFPR, por ter me disponibilizado seu laboratório e sua balança analítica para a elaboração de diversas amostras. Agradeço ao meu amigo Luis Guilherme Macedo Baldo por ter me acompanhado e auxiliado durante estes últimos anos, e também pelas diversas festas na sua casa. Agradeço ao Arthur Predebon, pelos diversos litros de café que tomamos juntos e as diversas horas de conversa. Também deixo minha consideração aos demais colegas de almoço: Andressa, Davi, Palagas e Pietro, os quais foram todos essenciais para deixar este período de mestrado um pouco mais leve e alegre.

RESUMO

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias orgânicas da família química dos terpenos e compostos aromáticos extraídas de plantas, as quais possuem grande importância comercial devido às suas diversas aplicações nos setores industriais farmacêutico, de alimentos, fragrâncias e cosméticos associadas com suas propriedades organolépticas e biológicas. Além das propriedades já citadas, estes materiais também são luminescentes e estudos recentes encontrados na literatura citam o potencial uso desta propriedade para a detecção de óleos essenciais em diferentes matrizes, para o diagnóstico por imagem de frutos ou *in vivo* e para a investigação das interações intermoleculares (sinergismos) dos seus componentes, as quais se mostram cruciais para o entendimento dos seus mecanismos de ação biológica. No entanto, ainda não existem estudos a respeito da luminescência destes materiais e seus mecanismos. Dentro deste contexto, este trabalho almeja medir, analisar e compreender o espectro de fotoluminescência de diferentes tipos de óleos essenciais e discutir suas potenciais aplicações citadas na literatura. Seis tipos de óleos essenciais foram escolhidos para este estudo devido às suas diferentes composições e suas importâncias comerciais: citronela (*Cymbopogon winterianus*), eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*), menta japonesa (*Mentha arvensis*), botão de cravo (*Syzygium aromaticum*), laranja amarga (*Citrus aurantium*) e bergamota (*Citrus bergamia*). Além da medida de fotoluminescência com comprimento de onda de excitação no visível (474 nm), cromatografia gasosa acoplada com espectroscopia de massa e espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível são utilizadas como medidas complementares para avaliação da composição e das propriedades ópticas das amostras estudadas, respectivamente. Além dos óleos essenciais citados, alguns dos seus principais componentes e misturas entre estes componentes foram analisados. Os resultados obtidos com a técnica de absorvância mostraram que todas as mostras de óleos essenciais avaliadas possuem fortes interações intermoleculares no seu estado fundamental, as quais se apresentam na forma de efeitos batocrômicos. As medidas de fotoluminescência revelaram que todos os componentes isolados avaliados neste estudo apresentam emissões estreitas e intensas na região de 550-555 nm, sendo que alguns destes compostos também apresentam a formação de excímeros. O espectro de fotoluminescência dos óleos essenciais demonstrou interações entre alguns dos seus componentes no estado excitado com excímeros de outros componentes, resultando em um aumento das suas intensidades de emissão. Algumas amostras tiveram suas emissões intensificadas pelo fenômeno de fluorescência por transferência ressonante de energia devido aos seus fortes efeitos batocrômicos. Em alguns sistemas, o espectro de fotoluminescência se mostrou muito sensível à presença de pequenas quantidades de algum componente específico, com destaque para a clorofila presente nos óleos cítricos analisados. Os resultados obtidos reafirmam o potencial do uso da fotoluminescência de óleos essenciais para sua detecção ou no diagnóstico por imagem. Para a investigação dos sinergismos entre seus componentes, a técnica de absorção no ultravioleta e visível mostrou-se mais eficiente.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Fotoluminescência. Espectroscopia. Sinergismos. Diagnóstico por imagem.

ABSTRACT

Essential oils are complex mixtures of organic substances from the terpenes and aromatic compounds chemical families extracted from plants which are of great commercial importance due to their diverse applications in the pharmaceutical, food, fragrance and cosmetic industries associated with their organoleptic and biological properties. In addition to these properties, these materials are also luminescent and recent studies found in the literature point the potential use of this property for the detection of essential oils in different matrices, for fruits or *in vivo* imaging and for the investigation of their components intermolecular interactions (synergisms), which are crucial for understanding their mechanisms of biological action. However, there are no studies about the luminescence of these materials and their mechanisms. Thus, this work aims to measure, analyze and understand the photoluminescence spectrum of different types of essential oils and discuss their potential applications cited in the literature. Six types of essential oils were chosen for this study due to their different compositions and their commercial importance: citronella (*Cymbopogon winterianus*), eucalyptus citriodora (*Eucalyptus citriodora*), Japanese mint (*Mentha arvensis*), clove bud (*Syzygium aromaticum*), bitter orange (*Citrus aurantium*) and bergamot (*Citrus bergamia*). In addition to the photoluminescence measurements with a visible light excitation wavelength (474 nm), gas chromatography coupled with mass spectroscopy and ultraviolet and visible absorption spectroscopy were used as complementary measures to evaluate the composition and optical properties of the studied samples, respectively. In addition to the essential oils mentioned, some of their main components and mixtures between these components were analyzed. The results obtained with the absorbance technique showed that all samples of evaluated essential oils have strong intermolecular interactions in their fundamental state, which were presented as bathochromic effects. Photoluminescence measurements revealed that all the isolated components assessed in this study have narrow and intense emissions in the region of 550-555 nm, and some of these compounds also have shown excimer formation. The photoluminescence spectrum of the essential oils demonstrated interactions between some of their components in the excited state with other components excimers, resulting in increased emission intensities. Some samples had their emissions intensified by the resonant energy transfer fluorescence phenomenon due to their strong bathochromic effects. In some systems, the photoluminescence spectrum was very sensitive to the presence of small amounts of some specific component, highlighting the chlorophyll presence in the assessed citrus oils. These results reaffirm the potential of using essential oils photoluminescence for its detection or imaging. For the investigation of synergisms between its components, the ultraviolet and visible absorption technique was found to be more effective.

Keywords: Essential oils. Photoluminescence. Spectroscopy. Synergisms. Imaging.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Número de registros de publicações que contém o termo “*essential oil(s)*” na base de dados *Web of Science* – Coleção Principal entre os anos 1995-2018.22
- Figura 2 – Exemplos de terpenos e suas estruturas químicas. Da esquerda para direita: limoneno (monoterpeno monocíclico), geraniol (monoterpenóide acíclico), mentona (monoterpenóide monocíclica) e cariofileno (sesquiterpeno cíclico).27
- Figura 3 – Exemplos de compostos aromáticos e suas estruturas químicas.27
- Figura 4 – Estrutura química das clorofilas *a* e *b*.37
- Figura 5 – Estrutura química do pigmento β -caroteno.38
- Figura 6 – Diagrama de transições eletrônicas entre níveis de energia molecular. ..41
- Figura 7 – Diagrama de Jablonski.46
- Figura 8 – Esquema ilustrativo da formação de excímeros a partir de duas moléculas idênticas, uma excitada (monômero) e outra no estado fundamental, e suas respectivas emissões características.50
- Figura 9 – Espectro de fluorescência do eugenol (1.10^{-5} mol.L⁻¹) em uma solução de metanol-água (40:60, v/v) com a presença de α - e β -ciclodextrina. A linha contínua mostra o espectro do eugenol em solução sem a presença de ciclodextrina, enquanto que as linhas pontilhadas mostram o espectro resultante de diferentes concentrações de ciclodextrina. Concentrações de β -ciclodextrina: 3.10^{-3} mol.L⁻¹ (1) e 9.10^{-3} mol.L⁻¹ (2); Concentrações de α -ciclodextrina: 2.10^{-2} mol.L⁻¹ (3) e $2.25.10^{-2}$ mol.L⁻¹ (4).52
- Figura 10 – Espectro de emissão de glóbulos ricos em carotenoides e clorofila presentes em algas verdes da espécie *Dunaliella salina*.53
- Figura 11 – Emissão fluorescente *in vivo* do OE de camomila selvagem a partir da pele de ratos. No primeiro quadro encontram-se os ratos sem aplicação do OE e, no segundo quadro, 3 horas após a aplicação. Os ratos indicados pelas setas foram tratados em uma região depilada das suas costas, enquanto que o rato do meio foi usado para controle.54

Figura 12 – Comportamento multifluorescente de bactérias do tipo <i>E. coli</i> após a aplicação de nanopartículas de óleo essencial de hortelã sobre elas.	55
Figura 13 – Logotipo da empresa Terraflor Aromaterapia.....	60
Figura 14 – Selo de produto orgânico aferido pelo Ministério da Agricultura (esquerda) e pela IBD (direita).	60
Figura 15 – Aspecto das amostras de óleos essenciais adquiridas.	61
Figura 16 – Logotipo da empresa Givaudan do Brasil Ltda.	62
Figura 17 - Aspecto das amostras de componentes individuais de óleos essenciais em estado líquido.....	63
Figura 18 - Amostra de mentol em estado sólido.....	63
Figura 19 – Estrutura química dos diversos componentes de óleos essenciais utilizados neste estudo.....	64
Figura 20 – Esquema ilustrativo do aparato experimental de fotoluminescência.....	70
Figura 21 – Fluxograma do processo de investigação dos mecanismos de fotoluminescência dos óleos essenciais.	72
Figura 22 – Espectro de transmitância referente ao extrato de pigmentos rico em clorofila obtido pelo procedimento de extração por cromatografia de coluna.	73
Figura 23 – Reta que relaciona a absorvância óptica em 670 nm e a concentração de clorofila dissolvida em solvente orgânico (Lei de Lambert-Beer). .	74
Figura 24 – Espectro de fotoluminescência de um frasco de vidro vazio (“branco”). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	75
Figura 25 – Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	76
Figura 26 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	77
Figura 27 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa (<i>Mentha arvensis</i>). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	78
Figura 28 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de botão de cravo (<i>Syzygium aromaticum</i>). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	79
Figura 29 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga (<i>Citrus aurantium</i>). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	80

Figura 30 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota (<i>Citrus bergamia</i>). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	81
Figura 31 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência dos óleos essenciais de menta japonesa (a), eucalipto citriodora (b), citronela (c), botão de cravo (d), laranja amarga (e) e bergamota (f). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	82
Figura 32 - Espectro de fotoluminescência do composto cariofileno (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	84
Figura 33 - Espectro de fotoluminescência do composto citral (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	85
Figura 34 - Espectro de fotoluminescência do composto isopulegol (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	86
Figura 35 - Espectro de fotoluminescência do composto eugenol (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	87
Figura 36 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela (a) e seus componentes analisados: isopulegol (b), citral (c), citronelal (d), citronelol (e) e geraniol (f). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.	92
Figura 37 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias entre seus componentes citronelal, citronelol e geraniol. $\lambda_{Exc} = 474$ nm.	96
Figura 38 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias de seus componentes contendo citral com citronelal, citronelol e geraniol. $\lambda_{Exc} = 474$ nm.....	97
Figura 39 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias de seus componentes contendo isopulegol com citronelal, citronelol, geraniol e citral. $\lambda_{Exc} = 474$ nm. .	98
Figura 40 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas de citronelal (45%) + geraniol (30%) + citral (15%) + citronelol (10%) e citronelal (44%) + geraniol (29%) + citral (15%) + citronelol (10%) + isopulegol (2%). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.	100
Figura 41 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto (a) citriodora e seus principais componentes: isopulegol (b), citronelal (c) e citronelol (d). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.	105

Figura 42 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto citriodora e misturas entre seus principais componentes. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	108
Figura 43 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa (a) e seus principais componentes analisados: isopulegol (b), isomentona (c) e mentona (d). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	113
Figura 44 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial e menta japonesa e misturas de mentol (64%) + mentona (36%) e mentol (66%) + isomentona (34%). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	117
Figura 45 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa e misturas dos seus componentes mentol, isomentona e isopulegol. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	118
Figura 46 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de botão de cravo (a) e seus principais componentes: eugenol (b), acetato de eugenila (c) e cariofileno (c). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	122
Figura 47 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial e botão de cravo e misturas dos seus três principais componentes: eugenol, cariofileno e acetato de eugenila. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	126
Figura 48 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga (a) e seus principais componentes: limoneno (b) e terpineno (c). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	130
Figura 49 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga e misturas dos seus componentes limoneno com terpineno e limoneno com clorofila. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	134
Figura 50 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota (a) e seus principais componentes: limoneno (b), acetato de linalina (c) e linalol (d). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	139
Figura 51 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota e misturas entre os seus componentes limoneno, acetato de linalina e linalol. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	144
Figura 52 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota e misturas entre seus principais componentes (limoneno, acetato de linalina e linalol) com clorofila dissolvida. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$	145

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Relação entre cores absorvidas e observadas em função do comprimento de onda máximo de absorção em soluções.	42
Quadro 2 - Comparação entre picos de emissão de fotoluminescência ($\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$) entre os diferentes componentes de óleos essenciais.	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais componentes presentes no óleo essencial de citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>).	32
Tabela 2 – Principais componentes presentes no óleo essencial de eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>).	33
Tabela 3 – Principais componentes presentes no óleo essencial de menta japonesa (<i>Mentha arvensis</i>).	34
Tabela 4 – Principais componentes presentes no óleo essencial de botão de cravo (<i>Syzygium aromaticum</i>).	35
Tabela 5 – Principais componentes presentes no óleo essencial de laranja amarga (<i>Citrus aurantium</i>).	36
Tabela 6 – Principais componentes presentes no óleo essencial de bergamota (<i>Citrus bergamia</i>).	39
Tabela 7 – Parâmetros de equipamento das medidas de GC-MS.	68
Tabela 8 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de citronela, seus principais componentes e misturas entre seus componentes analisados.	93
Tabela 9 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de eucalipto citriodora, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes.....	106
Tabela 10 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de menta japonesa, seus principais componentes analisados e misturas entre seus principais componentes.....	115
Tabela 11 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de botão de cravo, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes.	123
Tabela 12 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de laranja amarga, seus principais componentes misturas entre seus principais componentes.....	132

Tabela 13 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de bergamota, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes. 141

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

OE(s)	- Óleo(s) essencial (essenciais)
PL	- Fotoluminescência
UV	- Ultravioleta
Vis	- Visível
UV-Vis	- Ultravioleta e visível
Abs-UV/Vis	- Absorbância no ultravioleta e visível
GC	- Cromatografia Gasosa
MS	- Detecção por espectroscopia de massa
FID	- Detecção por ionização de chama
GC-MS	- Cromatografia gasosa acoplada com espectroscopia de massa
HPLC	- Cromatografia líquida de alta performance
FRET	- Fluorescência por transferência ressonante de energia
EEFM	- Matrix de fluorescência excitação-emissão
pH	- Potencial hidrogeniônico
ISO	- <i>International Organization for Standardization</i> (Organização Internacional de Normalização)
AFNOR	- <i>Association Française de Normalisation</i> (Associação Francesa de Normalização)
NIST	- <i>National Institute of Standards and Technology</i> (Instituto Internacional de Normas e Tecnologia)

LISTA DE SÍMBOLOS

® - marca registrada

mW – miliwatt

m – metro

cm – centímetro

mm – milímetro

μm – micrômetro

nm – nanômetro

L – litro

mL – mililitro

μL – microlitro

s – segundo

ms - milissegundo

ns - nano segundo

min - minuto

g – grama

kg – Quilograma

mg – miligrama

μg – micrograma

°C – grau Celsius

K – Kelvin

v/v – razão volume-volume

c – concentração molar

A – Absorbância

T – Transmitância

ε – Absortividade molar

b – caminho óptico

λ – comprimento de onda

λ_{Exc} – comprimento de onda de excitação

S – estado eletrônico singleto

Tr – estado eletrônico tripleto

μ_E – momento de dipolo de uma molécula no estado excitado

μ_G – momento de dipolo de uma molécula no estado fundamental

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	25
2.1.1 Composição química	25
2.1.1.1 Terpenos	26
2.1.1.2 Compostos aromáticos	27
2.1.2 Controle de qualidade	28
2.1.3 Óleo essencial de Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>).....	31
2.1.4 Óleo essencial de Eucalipto Citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	32
2.1.5 Óleo essencial de Menta Japonesa (<i>Mentha arvensis</i>).....	33
2.1.6 Óleo essencial de Botão de Cravo (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	34
2.1.7 Óleo essencial de Laranja Amarga (<i>Citrus aurantium</i>).....	35
2.1.7.1 Pigmentos contaminantes	36
2.1.8 Óleo essencial de Bergamota (<i>Citrus bergamia</i>).....	38
2.2 ABSORÇÃO MOLECULAR.....	40
2.3 FLUORESCÊNCIA MOLECULAR.....	45
3 CENÁRIO CIENTÍFICO	51
4 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	57
4.1 JUSTIFICATIVA	57
4.2 OBJETIVO GERAL	58
4.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	59
5 METODOLOGIA	60
5.1 AMOSTRAS	60
5.1.1 Óleos Essenciais.....	60
5.1.2 Componentes isolados dos óleos essenciais	62
5.1.3 Misturas entre componentes	65
5.1.3.1 Procedimento de extração de clorofila.....	66
5.2 CROMATOGRAFIA GASOSA.....	67
5.3 MEDIDAS DE ABSORBÂNCIA	69
5.4 MEDIDAS DE FOTOLUMINESCÊNCIA.....	69
5.5 PROCEDIMENTO DE INVESTIGAÇÃO	71
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73

6.1 EXTRAÇÃO DE CLOROFILA	73
6.2 FOTOLUMINESCÊNCIA – MEDIDA DE “BRANCO”	75
6.3 FOTOLUMINESCÊNCIA – ÓLEOS ESSENCIAIS	76
6.4 FOTOLUMINESCÊNCIA – COMPONENTES INDIVIDUAIS.....	84
6.5 ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA.....	90
6.5.1 Cromatografia gasosa	90
6.5.2 Misturas de componentes	90
6.5.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	91
6.5.4 Absorbância UV-Vis	93
6.5.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	96
6.5.5 Considerações gerais.....	102
6.6 ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO CITRIODORA.....	104
6.6.1 Cromatografia gasosa	104
6.6.2 Misturas de componentes	104
6.6.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	105
6.6.4 Absorbância UV-Vis	106
6.6.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	108
6.6.5 Considerações gerais.....	110
6.7 ÓLEO ESSENCIAL DE MENTA JAPONESA.....	112
6.7.1 Cromatografia gasosa	112
6.7.2 Misturas de componentes	113
6.7.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	113
6.7.4 Absorbância UV-Vis	115
6.7.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	117
6.7.5 Considerações gerais.....	119
6.8 ÓLEO ESSENCIAL DE BOTÃO DE CRAVO	121
6.8.1 Cromatografia gasosa	121
6.8.2 Misturas de componentes	121
6.8.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	122
6.8.4 Absorbância UV-Vis	123
6.8.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	126
6.8.5 Considerações gerais.....	128
6.9 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA AMARGA.....	129
6.9.1 Cromatografia gasosa	129

6.9.2 Misturas de componentes	129
6.9.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	130
6.9.4 Absorbância UV-Vis	131
6.9.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	134
6.9.5 Considerações gerais.....	135
6.10 ÓLEO ESSENCIAL DE BERGAMOTA.....	137
6.10.1 Cromatografia gasosa	137
6.10.2 Misturas de componentes	138
6.10.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes	139
6.10.4 Absorbância UV-Vis	140
6.10.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes	144
6.10.5 Considerações gerais.....	147
7 CONCLUSÕES	149
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	153
REFERÊNCIAS.....	155
ANEXO 1 – ESPECTROS DE FOTOLUMINESCÊNCIA DE COMPONENTES DE ÓLEOS ESSENCIAIS ($\lambda_{\text{exc}} = 474 \text{ nm}$).....	162
ANEXO 2 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA	163
ANEXO 3 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO CITRIODORA	164
ANEXO 4 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE MENTA JAPONESA.....	165
ANEXO 5 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE BOTÃO DE CRAVO	166
ANEXO 6 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA AMARGA	167
ANEXO 7 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE BERGAMOTA.....	168

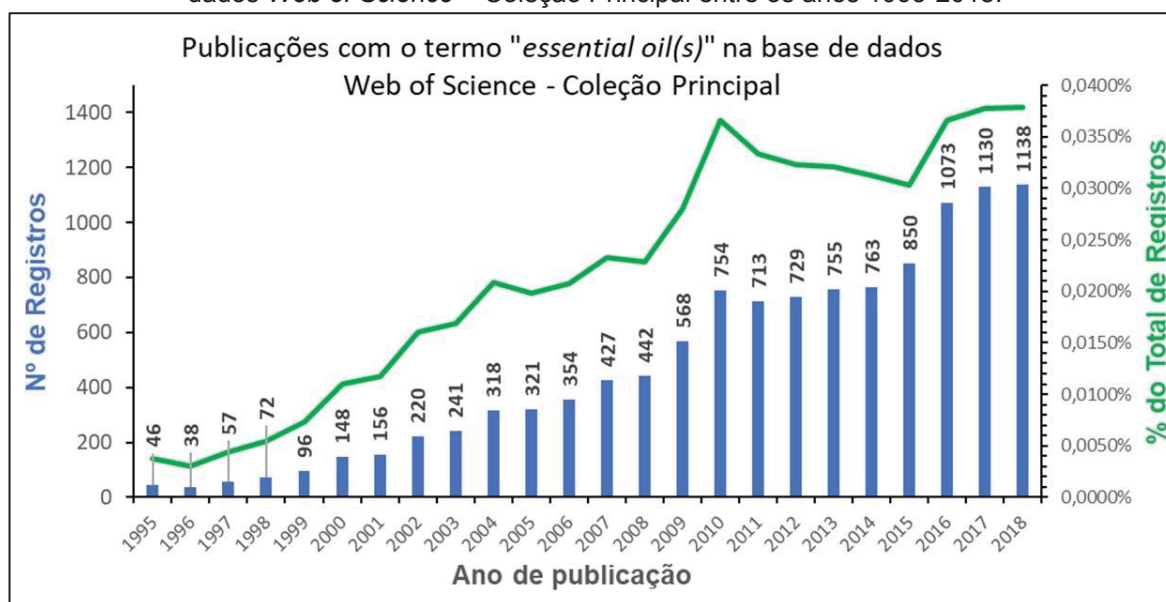
1 INTRODUÇÃO

Óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis que têm sido amplamente utilizadas pela humanidade devido às suas mesmas propriedades apresentadas na natureza, como por exemplo, seus fortes odores e propriedades antissépticas. Dentre os milhares de OEs conhecidos, cerca de 300 deles apresentam importância comercial, especialmente para as indústrias dos setores farmacêutico, agrônômico, alimentício, sanitário, cosmético e de fragrâncias (BAKKALI *et al.*, 2008).

OEs podem ser comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993; SILVA-SANTOS *et al.*, 2008). Nas últimas décadas o mercado de OEs cresceu e se fortaleceu com as descobertas das suas propriedades terapêuticas, aplicadas para a aromaterapia (EDRIS, 2007), e fisiológicas, usadas na medicina (BAKKALI *et al.*, 2008). Somado a esses avanços, a demanda refinada das grandes indústrias por produtos de origem natural, visando a obtenção de produtos finais mais saudáveis e atrativos para o consumidor, também alavancou este mercado (BAIN & COMPANY, GAS ENERGY, 2014).

No ano de 2016 o mercado global de OEs foi contabilizado em US\$ 5,91 bilhões, com previsão de atingir US\$ 12,85 bilhões em 2023 (STATISTICS - MARKET RESEARCH CONSULTING, 2017). Devido ao seu mercado promissor e aos seus baixos rendimentos de extração (em torno de 1%, em média), OEs são considerados produtos valiosos (MBOGNING FEUDJIO *et al.*, 2017) e, como consequência disso, existem diversas preocupações práticas no controle de qualidade desses produtos por parte de seus fabricantes e compradores. Com todo este cenário animador, o interesse científico acerca destes materiais também é crescente, conforme podemos constatar na análise cienciométrica presente no gráfico da Figura 1.

Figura 1 – Número de registros de publicações que contém o termo “essential oil(s)” na base de dados *Web of Science* – Coleção Principal entre os anos 1995-2018.



Fonte: Adaptado de *Web of Science* – Coleção Principal.

O sinergismo entre alguns dos seus componentes mostra-se, diversas vezes, crucial na compreensão dos seus mecanismos de ação, com destaque para suas aplicações biológicas (ARAÚJO *et al.*, 2016; BAKKALI *et al.*, 2008; DAWIDOWICZ & OLSZOWY, 2014; FRANZIOS *et al.*, 1997; IPEK *et al.*, 2005; LEE & SHIBAMOTO, 2001; OJEDA-SANA *et al.*, 2013; SAFAEI-GHOMI *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2012). Além disso, a investigação de propriedades físicas destes compostos, como a fotoluminescência, pode estar associada a aplicações inéditas ou ainda pouco exploradas destes produtos (BOSCHI *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2014). Portanto, análises que contemplem e/ou investiguem os diferentes tipos de OEs e as interações intermoleculares dos seus componentes podem ser úteis para os diversos setores de pesquisa e da indústria que lidam com esses produtos.

A luminescência molecular é um fenômeno óptico caracterizado pela emissão de luz por moléculas. Tal fenômeno ocorre quando determinadas moléculas retornam ao seu estado fundamental após terem sido excitadas, havendo a promoção dos elétrons de valência de um orbital menos energético para um orbital de maior energia. No caso em que a excitação da molécula luminescente é causada pela absorção da energia de um fóton de origem externa, esse fenômeno é justamente a supra citada fotoluminescência (PL, do inglês *Photoluminescence*) (SKOOG, 2007).

A PL, que é característica de diversos materiais, é conhecida e explorada pela ciência desde a segunda metade do século XIX, e atualmente tem importância para diversos campos da ciência e da tecnologia, dentre eles podemos citar a física, química, ciência dos materiais, biologia e medicina (VALEUR & BERBERAN-SANTOS, 2011).

A espectroscopia de fotoluminescência molecular é um tipo de medida experimental que faz o uso desse fenômeno. Ela possui aplicações no campo de análises qualitativas (espectros característicos) e quantitativas de compostos luminescentes, sendo possível a detecção de substâncias com alta especificidade e valores de limites de detecção na ordem de partes por bilhão (VALEUR & BERBERAN-SANTOS, 2011).

Na década de 90 foi realizado o primeiro estudo que investigava o uso da fotoluminescência como ferramenta de distinção entre diversos tipos de resinas naturais (as quais possuem componentes químicos semelhantes aos OEs) e outros compostos orgânicos comumente encontrados em pinturas (LARSON *et al.*, 1991). Na mesma década, também foi estudada a luminescência do eugenol e do anetol, moléculas orgânicas comumente encontradas em OEs, com a intenção de utilizar essa propriedade na análise quantitativa destes compostos (OCHOCKA *et al.*, 1992).

Depois de quase duas décadas sem trabalhos relevantes nesta área para estes materiais, o assunto recebeu atenção novamente com estudos que avaliaram o uso da fotoluminescência de OEs para diversos usos, tais como:

- Detecção de OEs na composição de medicamentos (APRAJ *et al.*, 2011);
- Utilização de OEs como marcadores ou rastreadores biológicos (BOSCHI *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2014);
- Avaliação da estabilidade de OEs (RĂILEANU *et al.*, 2013);
- Distinção entre OEs semelhantes (MBOGNING FEUDJIO *et al.*, 2014);
- Ferramenta para a compreensão de mecanismos de ação biológica dos OEs (ARAÚJO *et al.*, 2016);
- Investigação de adulteração em OEs (MBOGNING FEUDJIO *et al.*, 2017).

Além disso, medidas de espectrofotometria na faixa do ultravioleta e visível (Abs-UV/Vis) podem aparecer como análises complementares em alguns estudos de PL (RĂILEANU *et al.*, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2016).

A espectrofotometria corresponde à medida quantitativa da absorção de luz por diferentes meios. Ela é o método de análises óptico mais utilizado em

investigações biológicas e físico-químicas. A espectrofotometria também ser usada para análises qualitativas na identificação de algumas moléculas orgânicas (SKOOG, 2007).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) também se apresenta como uma medida importante nos estudos sobre OEs. Este método de separação e identificação de componentes de misturas voláteis é comumente utilizado na avaliação da composição química de OEs (DO *et al.*, 2015; TUREK & STINTZING, 2013).

No entanto, mesmo com a PL dos OEs apresentando resultados promissores e diversas possíveis aplicações, são poucos os estudos que avaliam de uma maneira mais detalhada esta propriedade. Na verdade, é comum encontrar menções de autores a respeito da falta de compreensão que existe a respeito do tema (BOSCHI *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2014; MOMIN *et al.*, 2012).

Dessa forma, este trabalho se propõe a preencher algumas dessas lacunas de conhecimento através da medição e análise da PL de diferentes tipos de OEs, visando uma discussão a respeito da viabilidade das suas aplicações indicadas na literatura.

As técnicas de GC-MS e Abs-UV/Vis também serão utilizadas como medidas complementares nesse estudo, tanto para a caracterização das amostras de OE estudadas, quanto para o melhor entendimento da sua fotoluminescência, respectivamente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

OEs são compostos voláteis, naturais e complexos caracterizados por um odor forte. Podem ser sintetizados por todos os órgãos de plantas aromáticas como metabólitos secundários. Eles são líquidos, voláteis, límpidos, raramente coloridos, lipossolúveis, solúveis em solventes orgânicos e geralmente apresentam densidade menor que a da água. Na natureza, OEs desempenham um importante papel na proteção de plantas como bactericidas, antifúngicos, antivirais, inseticidas e também agem contra os animais herbívoros, diminuindo seus apetites pelas plantas em questão. Eles também podem ser responsáveis por atrair alguns insetos que atuam na proliferação de pólen ou repelir aqueles que são indesejáveis (BAKKALI *et al.*, 2008).

Existem diversos métodos para a extração de OEs, o mais comum é a hidrodestilação, ou também chamada de destilação por arraste de vapor. Outros métodos que também podem ser citados são: prensagem a frio, extração com dióxido de carbono supercrítico ou micro-ondas (REVERCHON & MARRONE, 1997; LUCCHESI *et al.*, 2004; BIZZO *et al.*, 2009).

2.1.1 Composição química

O OE extraído pode apresentar variações em qualidade, quantidade e composição de acordo com o clima e solo no qual sua planta é cultivada, ou ainda de acordo com o órgão e/ou idade da planta utilizada.

OEs podem conter de 20-60 componentes em concentrações muito diferentes. No entanto, eles são caracterizados por 2 ou 3 componentes majoritários que possuem concentrações consideravelmente mais altas (20-70%) quando comparados com outros constituintes que apresentam apenas traços na composição.

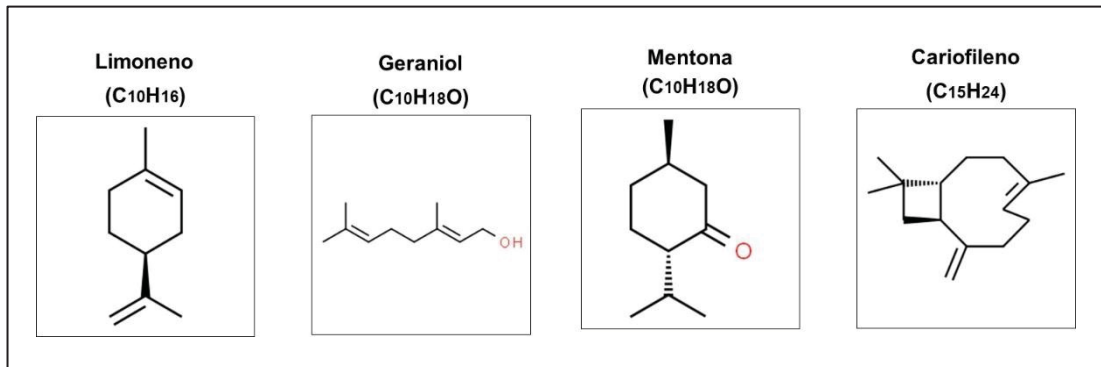
Geralmente, estes componentes majoritários determinam as propriedades biológicas dos OEs. Seus componentes pertencem a dois grupos de diferentes origens biosintéticas. O principal grupo é composto por terpenos e terpenóides, já o segundo grupo é constituído de substâncias aromáticas e alifáticas, todos caracterizados por pequenas massas moleculares (BAKKALI *et al.* 2008).

2.1.1.1 Terpenos

O grupo dos terpenos formam classes com diferentes estruturas e funcionalidades. Eles são sintetizados a partir de combinações de diversas unidades de 5 carbonos (C_5) chamadas isopreno. Os principais terpenos são os chamados monoterpenos (C_{10}) e sesquiterpenos (C_{15}). Um terpeno que possua átomos de oxigênio na sua estrutura é chamado de terpenóide.

Os monoterpenos e monoterpenóides são formados a partir da combinação de duas unidades de isopreno (C_{10}). Estas moléculas constituem cerca de 90% dos OEs, desta forma, são consideradas as mais representativas nesse aspecto e permitem uma grande variedade de estruturas e apresentam diversas funções orgânicas como carbonetos acíclicos (e.g. mirceno), monocíclicos (e.g. terpinenos) ou bicíclicos (e.g. pinenos), álcoois acíclicos (e.g. geraniol, linalol, citronelol), monocíclicos (e.g. mentol, isopulegol) ou bicíclicos, aldeídos acíclicos (e.g. geranial, neral, citronelal), cetonas acíclicas, monocíclicas (e.g. mentona) ou bicíclicas, ésteres acíclicos (e.g. acetato de linalina), monocíclicos (e.g. acetato de mentila) ou bicíclicos, éteres, peróxidos e fenóis. Quando uma dessas moléculas apresenta isomeria óptica, a mistura racêmica dos enantiômeros é frequentemente encontrada nos OEs de diversas plantas. Já os sesquiterpenos são formados a partir de três unidades de isopreno (C_{15}). A extensão das suas cadeias aumenta o número de ciclizações, fato que permite a existência de uma grande variedade de estruturas. As estruturas e funções existentes nos sesquiterpenos são similares àquelas encontradas nos monoterpenos, como carbonetos (e.g. β -cariofileno), álcoois, cetonas e epóxidos (BAKKALI *et al.* 2008). Alguns exemplos de substâncias pertencentes a estes grupos podem ser vistos na Figura 2.

Figura 2 – Exemplos de terpenos e suas estruturas químicas. Da esquerda para direita: limoneno (monoterpeno monocíclico), geraniol (monoterpenóide acíclico), mentona (monoterpenóide monocíclica) e cariofileno (sesquiterpeno cíclico).

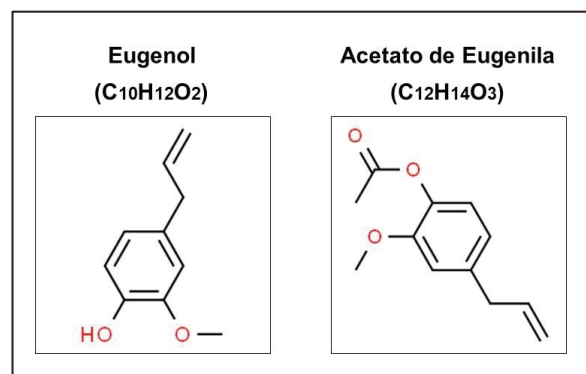


Fonte: Adaptado de ChemSpider.

2.1.1.2 Compostos aromáticos

Derivados do fenilpropano, os componentes aromáticos ocorrem com menor frequência do que os terpenos. As rotas biosintéticas correspondentes aos terpenos e derivados fenilpropanóicos geralmente ocorrem separadamente nas plantas, no entanto, elas podem coexistir em algumas delas com alguma das rotas se sobressaindo. Dentre os componentes aromáticos temos aldeídos, álcoois, fenóis (e.g. eugenol), ésteres benzoato (e.g. acetato de eugenila), entre outros (BAKKALI *et al.* 2008). Exemplos destes compostos aromáticos podem ser vistos na Figura 3

Figura 3 – Exemplos de compostos aromáticos e suas estruturas químicas.



Fonte: Adaptado de ChemSpider.

2.1.2 Controle de qualidade

De acordo com a definição dada pela Organização Internacional de Normalização (ISO, do inglês *International Organization for Standardization*), o termo “óleo essencial” é reservado para um “produto obtido a partir de matéria prima vegetal bruta (sem preparação) através de destilação por água ou vapor, ou a partir do epicarpo de frutas cítricas por processos mecânicos ou destilação a seco” (ISO 9235, 1997), ou seja, obtenção por meios exclusivamente físicos. Desta forma, a maioria dos OEs disponíveis comercialmente são obtidos por hidrodestilação. Padrões físicos de OEs são especificados pela Associação Francesa de Normalização (AFNOR) e também pela ISO. Além disso, OEs para fins medicinais também precisam estar de acordo com a Farmacopeia nacional ou internacional (TUREK & STINTZING, 2013).

Devido ao fato de que muitos dos componentes de OEs pertencem ao mesmo grupo químico, eles se convertem facilmente uns nos outros através de reações de oxidação, isomerização, ciclização ou desidrogenação (TUREK & STINTZING, 2013).

Como dito anteriormente, OEs são produtos de alto valor agregado e seus preços muitas vezes são consideravelmente maiores do que materiais de origem sintética. Devido a esse fato, diversos casos de adulteração já foram constatados (REMAUD *et al.*, 1997). A Autenticidade pode ser definida como a ausência de adulteração, indicando a inexistência de corpos estranhos ou materiais de outra origem, mas também sugere a ausência de impurezas em um material bruto (MARRIOTT *et al.*, 2001). Dessa forma, a autenticidade é um assunto importante para consumidores. Do ponto de vista regulatório, padrões de qualidade vêm sendo estabelecidos pelas exigências de rótulos que especifiquem a composição química de cada óleo essencial. Do ponto de vista econômico, a autenticação é de importância crítica para evitar concorrências injustas que podem desestabilizar o mercado e prejudicar o processo produtivo de economias locais, ou até nacionais (CORDELLA *et al.*, 2002).

Uma vez que terpenos/terpenóides tendem a ser voláteis e termolábeis e podem ser facilmente oxidados ou hidrolisados dependendo das suas respectivas estruturas, é compreensível que a composição química de OEs seja, além de outros fatores, dependente do processamento e armazenamento da matéria prima vegetal, do processo de extração e do posterior manuseio do óleo, pois uma vez desprovidos dos seus compartimentos protetores da matriz vegetal, OEs ficam mais dispostos a

danos oxidativos, transformações químicas ou reações de polimerização. Estes processos de envelhecimento, geralmente, vêm acompanhados de uma perda de qualidade (TUREK & STINTZING, 2013).

A degradação de OEs depende de vários fatores externos, tais como a luminosidade, temperatura e acessibilidade a oxigênio atmosférico. Além disso, a composição do óleo, estrutura dos compostos e a presença de impurezas também regem sua estabilidade (TUREK & STINTZING, 2013).

Radiação ultravioleta (UV) e visível (Vis) são responsáveis por acelerar processos de auto oxidação por acarretar a eliminação de hidrogênio que resulta na formação de radicais do tipo alquil (CHOE & MIN, 2006). Além disso, a iluminação também possui um papel crucial no processo de foto oxidação que ocorre na presença de oxigênio atmosférico e agentes orgânicos sensibilizantes como clorofilas ou porfirinas, os quais normalmente estão ausentes em OEs extraídos por hidrodestilação (BÄCKTORP *et al.*, 2006; HAMILTON *et al.*, 1997).

A temperatura do meio também influencia de forma pronunciada a estabilidade dos OEs em diversos aspectos. Geralmente, reações químicas são aceleradas pelo fornecimento de calor e, uma vez que reações de oxidação estão entre as principais causas da deterioração de OEs, se não as mais frequentes, é óbvio que o acesso a oxigênio também desempenha um papel decisivo na sua estabilidade (TUREK & STINTZING, 2013).

Quando se trata de adulterações em OEs, existem alguns casos que merecem atenção especial como a adição de óleos vegetais e/ou solventes de densidade similar para diluição e ganho de volume; adição de componentes específicos de origem sintética ou mesmo natural para atender os padrões estabelecidos; e adição de outro óleo essencial de características organolépticas similares e preço inferior (DO *et al.*, 2015).

A adulteração também pode acontecer pela mistura de diferentes OEs obtidos pela extração de diferentes partes da mesma planta. Outro caso de adulteração grosseira pode ocorrer pela apresentação de um óleo sintético (mistura de componentes sintéticos que se assemelha a fórmula de um OE natural) sob o selo de um produto de origem natural (mais valioso) (DO *et al.*, 2015).

Portanto, levando em consideração que as diversas aplicações dos OEs estão relacionadas com uma grande variedade de componentes que compõe cada tipo, são necessárias análises minuciosas para comprovar a qualidade e autenticidade dos

mesmos. A determinação de diversos parâmetros como densidade relativa, rotação óptica, índice de refração, ponto de fusão, ou análises de componentes específicos estão presentes na Farmacopeia Europeia para controle de pureza. Por questão de rotina, análises sensoriais são naturalmente apropriadas, tais como a verificação do odor característico ou, embora menos comum, do sabor (PUDIL *et al.*, 1998).

De maneira geral, métodos cromatográficos acoplados a diferentes modos de detecção são usados para investigar a composição e OEs, oferecendo informações a respeito da identidade, possíveis impurezas ou adulterações, bem como reações de degradação que o óleo possa ter sofrido (DO *et al.*, 2015; TUREK & STINTZING, 2013).

A cromatografia gasosa (GC), geralmente, é a técnica escolhida hoje em dia para examinar a complexa mistura que um OE representa. Este método é naturalmente apropriado para a análise de fragrâncias devido à volatilidade destes produtos. GC é um processo de separação caracterizado por um elevado número de pratos teóricos, resultando em uma separação excepcional de compostos. A separação por GC é então combinada com algum método de detecção, geralmente por ionização de chama (FID, do inglês *Flame Ionization Detector*) ou espectrometria de massa (MS, do inglês *Mass Spectrometry*), que se mostram adequados para determinação de terpenos/terpenóides. Mesmo assim, este tipo de análise é limitado a um número relativamente pequeno de compostos com temperaturas de ebulição abaixo de 350-400 °C que se mantêm estáveis sob vaporização e sob as temperaturas de separação. Na realidade, diversas alterações estruturais de compostos termolábeis ou menos voláteis presentes em OEs durante análises de GC são reportadas na literatura (TUREK & STINTZING, 2013).

Por outro lado, cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês *High-Performance Liquid Chromatography*) tem se mostrado um método versátil e sensível para a detecção de compostos voláteis, não voláteis e termolábeis de OEs (DO *et al.*, 2015; TUREK & STINTZING, 2013). Somado a isso, a técnica de HPLC também vem se mostrando útil na detecção de adulterantes em OEs. No entanto, seu preço mais elevado, somado à inexistência de um banco de dados bem estabelecido, ainda limita sua aplicação (DO *et al.*, 2015).

Além dos métodos cromatográficos mencionados, análises enantiosseletivas, espectroscopia de massa de relação isotrópica e, embora menos usuais, análises vibracionais, também são usadas para identificar adulterações (DO *et al.*, 2015).

De maneira geral, quando se trata de controle de qualidade de OEs, técnicas que não fornecem uma separação dos diferentes componentes presentes no óleo perdem em sensibilidade e são limitados para quantificações. Além disso, a existência de um banco de dados bem consolidado também é desejada (DO *et al.*, 2015).

2.1.3 Óleo essencial de Citronela (*Cymbopogon winterianus*)

A citronela é uma planta perene largamente cultivada nas regiões tropicais do planeta em função das suas propriedades aromáticas. O cultivo de citronela do tipo *Cymbopogon winterianus* possui destaque no mercado brasileiro devido à grande procura pelo seu OE, tanto no mercado interno quanto para exportação. Até 1989 era o 4º OE mais comercializado no Brasil e até 1993 o OE de citronela estava presente entre os 18 principais OEs do mercado mundial (BIZZO *et al.*, 2009; ROCHA *et al.*, 2000). OEs de plantas do gênero *Cymbopogon* geralmente são extraídos por vapor ou hidrodestilação das partes aéreas da planta, como folhas e flores (GANJEWALA, 2009).

OEs de citronela são largamente utilizados pelas indústrias de perfumes, sabões, cosmética e farmacêutica devido às suas propriedades antissépticas, antiespasmódicas, diuréticas e febrífugas. Atividades biológicas como repelente de insetos também podem ser encontradas. Além disso, este óleo é importante matéria prima para a produção de geraniol, citronelal e hidroxí-citronelal e pode ser usado como ingrediente de sabor pela indústria alimentícia (GANJEWALA, 2009; ROCHA *et al.*, 2000; SIMIC *et al.*, 2008). Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de citronela e as respectivas variações na sua composição podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais componentes presentes no óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*).

Componente	Fração Mássica
Citronelal	0,08 – 60,96%
Geraniol	10,03 – 48,72%
Citronelol	08,43 – 27,08%
Neral	Traços* – 18,95%
Geranial	Traços* – 05,84%
Isopulegol	00,03 – 14,89%

*Traços: < 0,02%

Fonte: Ganjewala (2009), Lorenzo *et al.* (2000), Rocha *et al.* (2000), Scherer *et al.* (2009) e Simic *et al.* (2008).

2.1.4 Óleo essencial de Eucalipto Citriodora (*Eucalyptus citriodora*)

O gênero de plantas *Eucalyptus* é bem distribuído através do globo devido à sua importância para produção de celulose (SU *et al.*, 2006). A variação *Eucalyptus citriodora* é uma árvore perene, originária da Austrália, que se destaca pelo seu OE rico em citronelal extraído das suas folhas, usualmente, por hidrodestilação. De fato, o *E. citriodora* é a fonte mais rica e econômica conhecida de citronelal. Na produção deste OE, para cada 1000 kg de massa foliar, são obtidos cerca de 10 a 16 kg de óleo (1,0 a 1,6% de rendimento) e entre 65 a 85% de citronelal. O OE de eucalipto citriodora também se encontrava entre os 18 OEs de maior importância no mercado global até 1993 e, no Brasil, sua produção possui destaque (BIZZO *et al.*, 2009; CASTRO *et al.*, 2008; N. MANIKA, 2012).

OEs do gênero *Eucalyptus* podem apresentar as seguintes propriedades biológicas: antifúngica, antisséptica, adstringente, anti-inflamatória, antibacteriana, cicatrizante, analgésico, antioxidante, repelente de insetos e ascaricida (ESTANISLAU *et al.* 2001; N. MANIKA, 2012; TOLBA *et al.*, 2015).

Devido a estas diversas propriedades, o eucalipto citriodora é uma das espécies mais utilizadas atualmente pelas indústrias de cosméticos, alimentos e farmacêutica. Seu óleo é utilizado para fins agrícolas, medicinais, na formulação de fragrâncias, artigos de higiene pessoal, desinfetantes e cosméticos. Já o citronelal obtido do seu óleo é utilizado pela indústria química, principalmente, para a produção de citronelol e mentol sintéticos (GBENOU *et al.*, 2013; N. MANIKA, 2012; TOLBA *et al.*, 2015).

Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de eucalipto citriodora e as respectivas variações na sua composição podem ser vistas na Tabela 2.

Tabela 2 – Principais componentes presentes no óleo essencial de eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*).

Componente	Fração Mássica
Citronelal	49,50 – 87,4%
Citronelol	01,85 – 21,7%
Isopulegol	00,90 – 10,4%
α -pineno	00,08 – 09,7%
Acetato de citronelila	00,40 – 07,8%
Linalol	00,10 – 06,4%

Fonte: Castro *et al.* (2008), Estanislau *et al.* (2001), Gbenou *et al.* (2013), N. Manika (2012), Su *et al.* (2006) e Tolba *et al.* (2015).

2.1.5 Óleo essencial de Menta Japonesa (*Mentha arvensis*)

Dentre as plantas do gênero *Mentha*, destaca-se a *Mentha arvensis*, conhecida popularmente como menta brasileira ou menta japonesa, principalmente pela exploração comercial do OE extraído de sua parte aérea e também pelo seu uso medicinal no combate de distúrbios estomacais, do aparelho respiratório e de parasitas intestinais (CHAGAS *et al.*, 2013). A menta japonesa é uma das mais cultivadas no Brasil devido à sua boa adaptação ao clima subtropical. A produção mundial de *Mentha arvensis* é estimada em torno de 20.000 toneladas por ano e o Brasil está entre os 6 maiores produtores mundiais do seu OE. A extração do OE de menta geralmente é feita por hidrodestilação, mas também podemos encontrar OEs desta espécie extraídos por solventes. Se por um lado, o óleo extraído por solvente apresenta uma coloração forte devido aos pigmentos presentes na sua matéria prima, os extratos obtidos por hidrodestilação apresentam uma coloração clara (WATANABE *et al.*, 2006).

Seu óleo essencial é rico em monoterpenos aromáticos como o mentol, mentona e outros derivados de valor mercadológico que são amplamente utilizados nas indústrias alimentícias, de sabores, farmacêuticas, cosméticas, perfumarias, bebidas e do tabaco. Além das suas propriedades organolépticas, o OE de menta

possui propriedades biológicas antissépticas e ligeiramente anestésicas (CHAGAS *et al.*, 2013; VERMA *et al.*, 2010).

Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de menta japonesa e suas respectivas variações na composição do óleo pode ser vista na Tabela 3.

Tabela 3 – Principais componentes presentes no óleo essencial de menta japonesa (*Mentha arvensis*).

Componente	Fração Mássica
Mentol	61,92 – 95,08%
Mentona	00,30 – 19,32%
Acetato de mentila	Traços* - 13,24%
Iso-mentona	Traços* - 06,10%
Limoneno	Traços* - 04,74%
Isopulegol	00,40 – 01,57%
*Traços: < 0,02%	

Fonte: Chagas *et al.* (2013), Singh *et al.* (2005), Verma *et al.* (2010) e Watanabe *et al.* (2006).

2.1.6 Óleo essencial de Botão de Cravo (*Syzygium aromaticum*)

Cravos (*Syzygium aromaticum*) são os botões de flores secos da árvore de cravo, uma árvore perene nativa da Indonésia (ALMA *et al.*, 2007; SILVESTRI *et al.*, 2010). Existem 3 tipos de OE de cravo: óleo dos botões, óleo do caule e óleo das folhas. Cada tipo possui composição química e sabor diferentes. O OE extraído dos botões é o mais caro e que fornece produtos de melhor qualidade devido às suas grandes quantidades de eugenol, acetato de eugenila e cariofileno. Este OE também se encontrava entre os 18 OEs mais importantes comercialmente no mundo até o ano de 1993 (ALMA *et al.*, 2007; BIZZO *et al.*, 2009).

O OE extraído dos botões de cravo, tradicionalmente por hidrodestilação, é muito utilizado para fins medicinais, principalmente no trato de problemas dentais. Suas propriedades biológicas citadas na literatura incluem efeitos analgésico, antisséptico, antiespasmódico, antinevrálgico, carminativo, anti-infeccioso, desinfetante, inseticida, estimulante estomacal e uterino, tônico, antifúngico, anticarcinogênico, antialérgico e com atividade antimutagênica (BOUGHENDJIOUA, 2018; CHAIEB *et al.*, 2007).

Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de botão de cravo e suas respectivas variações na composição do óleo pode ser vista na Tabela 4.

Tabela 4 – Principais componentes presentes no óleo essencial de botão de cravo (*Syzygium aromaticum*).

Componente	Fração Mássica
Eugenol	52,53 – 90,30%
Cariofileno	01,39 – 37,25%
Acetato de eugenila	01,87 – 08,60%
α -humuleno	00,20 – 04,11%
α -copaeno	00,10 – 02,05%

Fonte: Alma *et al.* (2007), Boughendjioua (2018); Chaieb *et al.* (2007), Lee & Shibamoto (2001), Scherer *et al.* (2009), Silvestri *et al.* (2010) e Tomaino *et al.* (2005).

2.1.7 Óleo essencial de Laranja Amarga (*Citrus aurantium*)

As frutas cítricas são as mais cultivadas no mundo, sendo a laranja a principal delas. A produção de laranjas e a industrialização do suco estão concentradas em quatro países, sendo o Brasil o primeiro deles, respondendo por um terço da produção mundial da fruta e quase 50% do suco fabricado. Aproximadamente 70% é processado e 30% vai para o consumo interno. O OE de laranja, extraído do pericarpo do fruto (parte externa da casca), é um subproduto da indústria do suco que, tradicionalmente, realiza sua extração por prensagem a frio (BIZZO *et al.*, 2009; KOKETSU *et al.*, 1983).

Os OEs cítricos produzidos no Brasil são genericamente agrupados em: laranja, limão, lima, tangerina, bergamota e “*grapefruit*” (toranja). Dentro de cada grupo, entretanto, é frequente a existência de diversos tipos, correspondente a variedades e híbridos. No grupo da laranja, a variedade *Citrus sinensis* Osbeck é a mais importante do Brasil, no entanto, a variedade *Citrus aurantium*, conhecida como laranja azeda ou laranja amarga, também possui sua importância devido ao fato de ter atuado como principal porta-enxerto da citricultura brasileira até 1940 (KOKETSU *et al.*, 1983).

Derivados do OE de laranja são usados em perfumaria, sabonetes, na área farmacêutica, materiais de limpeza, em balas e bebidas devido às suas propriedades organolépticas atribuídas, principalmente, ao seu componente majoritário: o limoneno

(frações mássicas acima de 90%). Algumas outras atividades biológicas também são relatadas na literatura, como citotoxicidade e inseticida (BAKKALI *et al.*, 2008; BIZZO *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2017).

Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de laranja amarga e suas respectivas variações na composição do óleo pode ser vista na Tabela 5.

Tabela 5 – Principais componentes presentes no óleo essencial de laranja amarga (*Citrus aurantium*).

Componente	Fração Mássica
Limoneno	78,53 – 93,30%
γ -terpineno	0,07 – 12,65%
Mirceno	1,28 – 03,10%
α -pineno	0,89 – 02,06%
B-pineno	1,17 – 01,57%

Fonte: Koketsu *et al.* (1983); Martins *et al.* (2017) e Razzaghi-Abyaneh *et al.* (2009).

2.1.7.1 Pigmentos contaminantes

É importante salientar que a laranja é constituída por três camadas, o flavedo ou epicarpo, o albedo ou mesocarpo e o endocarpo. A casca da laranja contém duas camadas: o epicarpo, camada rica em pigmentos onde estão contidas as glândulas de óleo, e o albedo, composto de células esponjosas de forma irregular e cor branca, separadas por grandes bolhas de ar. O OE fica contido no interior de glândulas próprias (diâmetro de 0,4 a 0,6 mm), situadas imediatamente após a epiderme do fruto, no epicarpo (PIRES *et al.*, 2017).

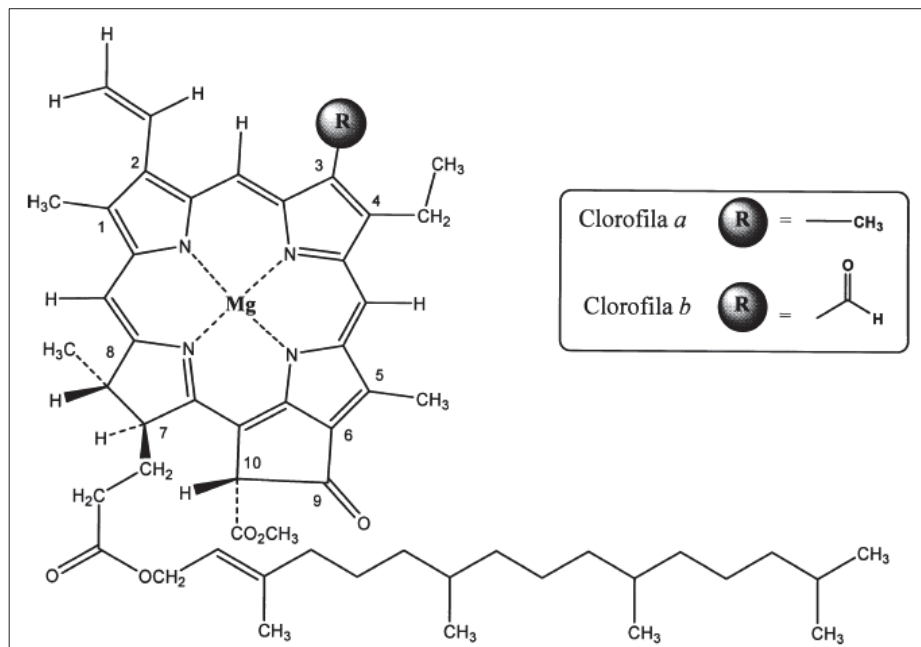
Para a extração do OE dos frutos cítricos são usados, basicamente, três processos: destilação a vapor, prensagem a frio e abrasão da superfície da casca. Como dito anteriormente, a extração por prensagem a frio é a mais usada pelas indústrias brasileiras produtoras de sucos. Neste processo, mediante aplicação de pressão, o suco e o óleo são expelidos simultaneamente e sem se misturarem. O OE é então arrastado por jato de água, formando uma emulsão que, depois de filtrada é conduzida para centrífugas para a separação do OE (KOKETSU *et al.*, 1983).

Um OE de laranja obtido que seja incolor e límpido indica a ausência de qualquer tipo de pigmento corado ou cera, enquanto um óleo que apresenta um tom amarelo pálido indica uma contaminação por pigmentos. Nesse contexto, o processo de obtenção por prensagem a frio comumente fornece OEs cítricos com pigmentos

contaminantes (PIRES *et al.*, 2017). Uma vez que o OE e os pigmentos da laranja ficam alojados na mesma parte da casca da fruta, é plausível de se imaginar que essa contaminação ocorra, no entanto, tais pigmentos contaminantes são muito pouco solúveis em água e uma extração feita por hidrodestilação, por exemplo, poderia fornecer um OE mais límpido (STREIT *et al.*, 2005; WATANABE *et al.*, 2006).

Dentre os pigmentos presentes no epicarpo da laranja, destacam-se as clorofilas e os carotenoides (ESCOBEDO-AVELLANEDA *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2015). As clorofilas são moléculas formadas por complexos derivados da porfirina, tendo como átomo central o Mg (magnésio) (Figura 4). Esse composto é uma estrutura macrocíclica assimétrica totalmente insaturada constituída por quatro anéis de pirrol. Existem dois tipos de clorofila: tipo *a* e tipo *b*. As clorofilas *a* e *b* encontram-se na natureza numa proporção de 3:1, respectivamente, e diferem nos substituintes do carbono C-3. Na clorofila *a*, o anel de porfirina contém um grupo metil no C-3 e a clorofila *b* (considerada um pigmento acessório) contém um grupo aldeído (STREIT *et al.*, 2005).

Figura 4 – Estrutura química das clorofilas *a* e *b*.



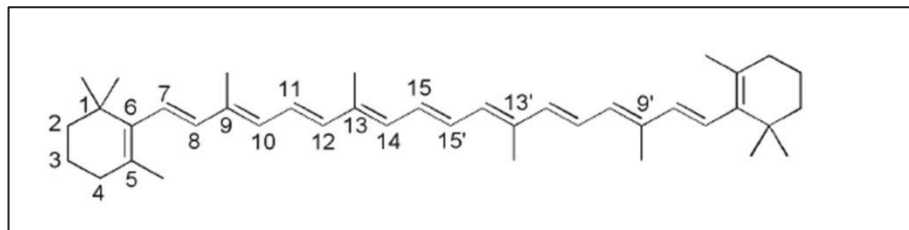
Fonte: Streit et al. (2005).

A estrutura essencial básica de um carotenoide consiste em unidades de isopreno ligadas covalentemente para formar uma molécula simétrica. O carotenoide mais comum em cascas de laranja é o β -caroteno (Figura 5), no entanto, estas

moléculas são instáveis na presença de oxigênio e se degradam facilmente (AHMED *et al.*, 2002; ESCOBEDO-AVELLANEDA *et al.*, 2014).

Os carotenoides possuem picos de absorção óptica na faixa do visível entre 400 a 550 nm e são responsáveis pela coloração amarelada-alaranjada em diversos vegetais, enquanto que as clorofilas possuem picos na região de 400-500 nm e outros na região de 670-680 nm e são responsáveis pela coloração esverdeada de diversas plantas. No processo de amadurecimento dos frutos cítricos, a coloração originalmente verde, devida à presença de clorofila, vai se tornando amarela ou laranja pelos processos de degradação da clorofila e de formação de carotenoides (KLEINEGRIS *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2015).

Figura 5 – Estrutura química do pigmento β -caroteno.



Fonte: Galzerano (2014).

2.1.8 Óleo essencial de Bergamota (*Citrus bergamia*)

A bergamota (*Citrus bergamia*) é definida como um híbrido entre a laranja amarga (*C. aurantium*) e o limão (*C. limon*) ou uma mutação desta última. Esta planta se apresenta como uma árvore de folhas verde escuro, similares ao limoeiro, com flores brancas em formato de estrela e frutos amarelos redondos. Assim como foi dito anteriormente, óleos extraídos das cascas de frutos cítricos são muito explorados industrialmente. No caso da indústria de sucos de laranja, o OE correspondente é obtido como um produto adicional. Já no caso da bergamota, há uma inversão de situação e o seu OE é o produto exclusivo. Isso se dá, em parte, pelo fato de que o suco extraído do fruto possui sabor amargo, mas principalmente pelas propriedades organolépticas únicas desse óleo que o tornam o óleo cítrico mais valioso que existe (KOKETSU *et al.*, 1983; NABIHA *et al.*, 2010; NAVARRA *et al.*, 2015). No ano de 2004, o OE de bergamota representava o 8º OE mais importado pela União Europeia. Embora existam plantações de bergamota no Brasil, o país não se destaca na

produção do seu OE, o qual geralmente é extraído pela raspagem e prensagem a frio da casca do respectivo fruto (BIZZO *et al.*, 2009; NABIHA *et al.*, 2010; NAVARRA *et al.*, 2015).

O OE de bergamota possui uma fração volátil e outra não-volátil. Dentro da fração volátil existem compostos oxigenados em quantidades superiores ao que é encontrado em outros óleos cítricos. Estes terpenos oxigenados são responsáveis pela maioria das características de cheiro e sabor deste óleo que encontram diversas aplicações nas indústrias de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Além disso, muita atenção tem sido dada para as propriedades biológicas do OE de bergamota nas suas aplicações sob os sistemas nervoso central e cardiovascular e na sua atividade antimicrobiana contra diferentes patógenos comuns (COSTA *et al.*, 2010; NABIHA *et al.*, 2010).

Uma revisão a respeito dos principais componentes do OE de bergamota e suas respectivas variações na composição do óleo pode ser vista na Tabela 6.

Tabela 6 – Principais componentes presentes no óleo essencial de bergamota (*Citrus bergamia*).

Componente	Fração Mássica
Limoneno	25,40 – 59,21%
Acetato de linalina	Traços* - 41,40%
Linalol	3,60 – 22,70%
β -pineno	4,38 – 12,70%
*Traços: < 0,02%	

Fonte: Costa *et al.* (2010), Koketsu *et al.* (1983), Mondello *et al.* (1998), Nabiha *et al.* (2010) e Navarra *et al.* (2015).

2.2 ABSORÇÃO MOLECULAR

O fenômeno óptico de absorção de luz por moléculas na faixa de comprimentos do ultravioleta e do visível (UV-vis) ocorre através de duas etapas: a primeira consiste na excitação da molécula em questão por um fóton, e a etapa seguinte consiste na relaxação da molécula, onde a energia excedente provida pelo fóton recebido se dissipa na forma de calor pelas ligações moleculares, causando um efeito de aumento de temperatura desprezível. Todo este fenômeno ocorre em intervalos de tempo na ordem de 10^{-14} a 10^{-15} s.

Este tipo de interação luz-matéria está intimamente ligado aos elétrons que, no estado fundamental, ocupam os orbitais moleculares de menor energia da molécula, e com a absorção da energia de um fóton de luz sofrem a excitação para um estado molecular de maior energia. Na prática, neste processo de absorção de luz pela molécula, apenas alguns elétrons são elevados de seu estado de menor energia para um de maior energia, e estas transições eletrônicas definem os estados excitados de uma molécula.

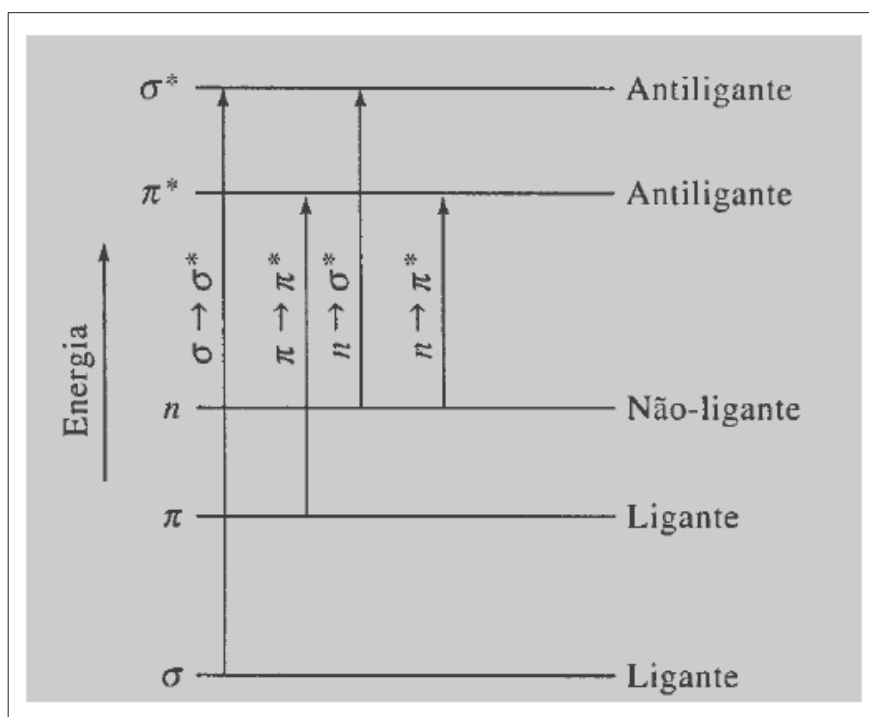
A absorção óptica por moléculas ou íons está associada a 3 tipos de transições eletrônicas:

- 1 – Transições de elétrons de orbitais π , σ e n ;
- 2 – Transições de elétrons de orbitais d e f ;
- 3 – Transições de elétrons por transferência espacial de carga.

Os elétrons do tipo σ são aqueles que participam de ligações covalentes entre dois orbitais atômicos do tipo s , ou entre dois orbitais tipo p , ou entre um orbital s e um p , onde em todos esses casos os orbitais se interpenetram frontalmente, observando-se uma simetria cilíndrica sobre o eixo que une o centro dos dois átomos envolvidos. Elétrons do tipo π pertencem a ligações químicas covalentes nas quais dois lóbulos de um orbital eletrônico p interseccionam dois lóbulos de outro orbital eletrônico p e apenas um dos planos nodais daquele orbital passa pelos núcleos envolvidos na ligação (característicos de compostos com duplas ou triplas ligações). Já os elétrons do tipo n são os chamados “elétrons não-ligantes”, onde os mesmos integram um orbital molecular que não faz parte de uma ligação covalente, pois a ligação é originada através de orbitais atômicos diferentes daqueles em que estes elétrons localizados.

Os elétrons dos tipos d e f são típicos de íons de metais de transição e os elétrons que participam do fenômeno de transferência de carga estão associados com reações de espécies inorgânicas com agentes complexantes. Desta forma, quando nos referimos à absorção óptica por espécies orgânicas, estamos lidando com transições eletrônicas do tipo π , σ e n , ou seja, elétrons que participam diretamente na formação de ligações entre átomos e elétrons antiligantes ou desemparelhados que estão em grande parte localizados em torno de átomos como oxigênio, halogênios, enxofre e nitrogênio. Um diagrama ilustrando estes tipos de transições eletrônicas pode ser visto na Figura 6.

Figura 6 – Diagrama de transições eletrônicas entre níveis de energia molecular.



Fonte: Adaptado de Skoog (2007).

Transições do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geram absorções na faixa de comprimentos de onda abaixo dos 150 nm, já as transições do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ absorvem entre 150 e 200 nm, transições $n \rightarrow \pi^*$ entre 200 e 700 nm e transições $\pi \rightarrow \pi^*$ entre 150 e 250 nm.

Como a região do espectro do UV compreende os comprimentos de onda (λ) entre 200 e 400 nm e a região do visível está entre 400 e 800 nm, a absorção óptica na faixa do UV-vis por moléculas orgânicas depende da presença de insaturações (duplas ou triplas ligações) ou de elétrons desemparelhados não ligantes.

Estes átomos ou conjuntos de átomos que contém elétrons de valência com energia de excitação mais baixa em relação as transições que envolvem os orbitais σ^* são responsáveis pela absorção de comprimentos de onda da radiação UV-vis e são chamados *cromóforos*. No entanto, em uma molécula também podem existir átomos ou grupos de átomos que não absorvem radiação, mas modificam alguma característica de absorção do cromóforo. A estas estruturas é dado o nome de *auxocromos*.

Quando uma dada molécula absorve apenas na região do UV, um observador enxerga uma solução incolor a olho nu. Caso a molécula observada absorva na região do visível, o que é observado é sua cor complementar. O Quadro 1 mostra as diferentes cores absorvidas e complementares em função do comprimento de onda de absorção da solução analisada.

Quadro 1 – Relação entre cores absorvidas e observadas em função do comprimento de onda máximo de absorção em soluções.

Comprimento de onda de máxima absorção (nm)	Cor absorvida	Cor observada
380-420	Violeta	Verde-amarelo
420-440	Violeta-azul	Amarelo
440-470	Azul	Laranja
470-500	Azul-verde	Vermelho
500-520	Verde	Roxo
520-550	Amarelo-verde	Violeta
550-580	Amarelo	Violeta-azul
580-620	Laranja	Azul
620-680	Vermelho	Azul-verde
680-780	Roxo	Verde

Fonte: Adaptado de Skoog (2007).

Os espectros de absorção são normalmente caracterizados por bandas largas devido aos vários níveis e subníveis energéticos dos orbitais moleculares (níveis vibracionais e rotacionais). Bandas de absorção de menor intensidade podem ocorrer quando existem as chamadas “transições eletrônicas permitidas por spin e proibidas por simetria”. No entanto, neste trabalho não iremos nos aprofundar nestes fenômenos específicos.

Em altas concentrações, as partículas do soluto ficam tão próximas que a distribuição de suas cargas e a capacidade para absorver radiações de um determinado comprimento de onda se alteram. No entanto, essa interação entre centros absorventes não é a única causa de alterações no espectro de absorção de uma substância. Em concentrações baixas da espécie absorvente, mudanças também podem ocorrer devido a interações eletrostáticas com outras espécies (solventes).

Os deslocamentos dos comprimentos de onda de absorção de uma molécula devido a efeitos de interações intermoleculares são classificados como batocrômicos ou hipsocrômicos, onde o primeiro representa o deslocamento para comprimentos de onda maiores e o segundo para menores. Já os efeitos de alteração de intensidade de absorção são classificados como hiperocrômicos (aumento de intensidade) ou hipocrômicos (decréscimo de intensidade).

Em casos de interações eletrostáticas fracas entre moléculas diferentes presentes numa mesma solução analisada, o efeito na absorção pode ser meramente aditivo.

De uma maneira bem simples, a medida experimental de Abs-UV/Vis é composta pelos seguintes itens: uma fonte de radiação (e.g. lâmpadas), um seletor de comprimentos de onda (e.g. filtros, prisma, rede de difração), um compartimento contendo a espécie a ser analisada (células ou cubetas), um sistema detector de intensidade luminosa e um dispositivo de processamento de dados (computador).

As cubetas usadas para abrigar a amostra de análise normalmente são feitas de algum material transparente como vidro, plástico ou quartzo. Para análises no UV é recomendado o uso de cubetas de quartzo, pois o vidro possui uma banda de absorção na região abaixo de 300 nm. Todavia, independente da cubeta utilizada, perdas por reflexão e espalhamento sempre ocorrem, desta forma, faz-se necessário o uso de uma cubeta idêntica àquela utilizada como recipiente da amostra analisada para que a potência do feixe de luz emergente da solução do analito possa ser comparada com a potência do feixe transmitido pela cubeta idêntica que pode estar vazia ou conter apenas o solvente em questão. Com isso, qualquer diminuição na potência do feixe luminoso causada pela cubeta ou pelo solvente usado será compensada.

A razão entre a potência dos feixes emergentes da solução analisada e da cubeta de comparação nos dá uma grandeza adimensional chamada transmitância (T). Esta grandeza, na prática, representa a fração do feixe de luz de um dado

comprimento de onda que a espécie analisada não absorveu, ou seja, que foi apenas transmitida pela amostra. A grandeza chamada absorvância (A), a qual também é conhecida por absorvância (segundo o Dicionário Priberam da Língua Portuguesa), representa o inverso da transmitância, ou seja, a parcela do feixe de luz que foi absorvida pela amostra, que pode ser calculada como:

$$A = -\log(T) \quad (1)$$

Vale ressaltar que, para soluções com concentrações baixas ($<10^{-2}$ mol/L), a absorvância de uma determinada espécie pode ser relacionada com a sua concentração na solução analisada pela Lei de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (2)$$

onde ε é a grandeza chamada de absorvidade molar (que é própria de cada substância para um dado λ), b é o caminho óptico (espessura da cubeta usada que representa a distância atravessada pelo feixe de luz na amostra) e c é a concentração molar da espécie analisada.

Para além de medidas quantitativas, as análises de Abs-UV/Vis são um tanto quanto limitadas. Análises qualitativas frequentemente não permitem identificações inequívocas pelo fato do número de absorções máximas e mínimas serem relativamente escassas (SKOOG, 2007).

2.3 FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Como já mencionado anteriormente, o fenômeno óptico de luminescência corresponde à emissão de luz por qualquer substância decorrente de estados eletrônicos excitados. Nos casos de luminescência molecular em que um fóton é o agente responsável por gerar o seu estado excitado, classificamos o fenômeno como uma fotoluminescência. No entanto, a fotoluminescência ainda pode ser subclassificada em fluorescência e fosforescência. O fenômeno de fluorescência é um tipo de fotoluminescência caracterizado por taxas de emissão de fótons na ordem de 10^8 s^{-1} . Comparado com outro tipo de fotoluminescência, a fosforescência, que apresenta taxas de emissão que variam entre 10^3 a 10^0 s^{-1} , a fluorescência é um fenômeno que ocorre de maneira mais rápida, com tempo de duração na ordem de 10 ns (SKOOG, 2007).

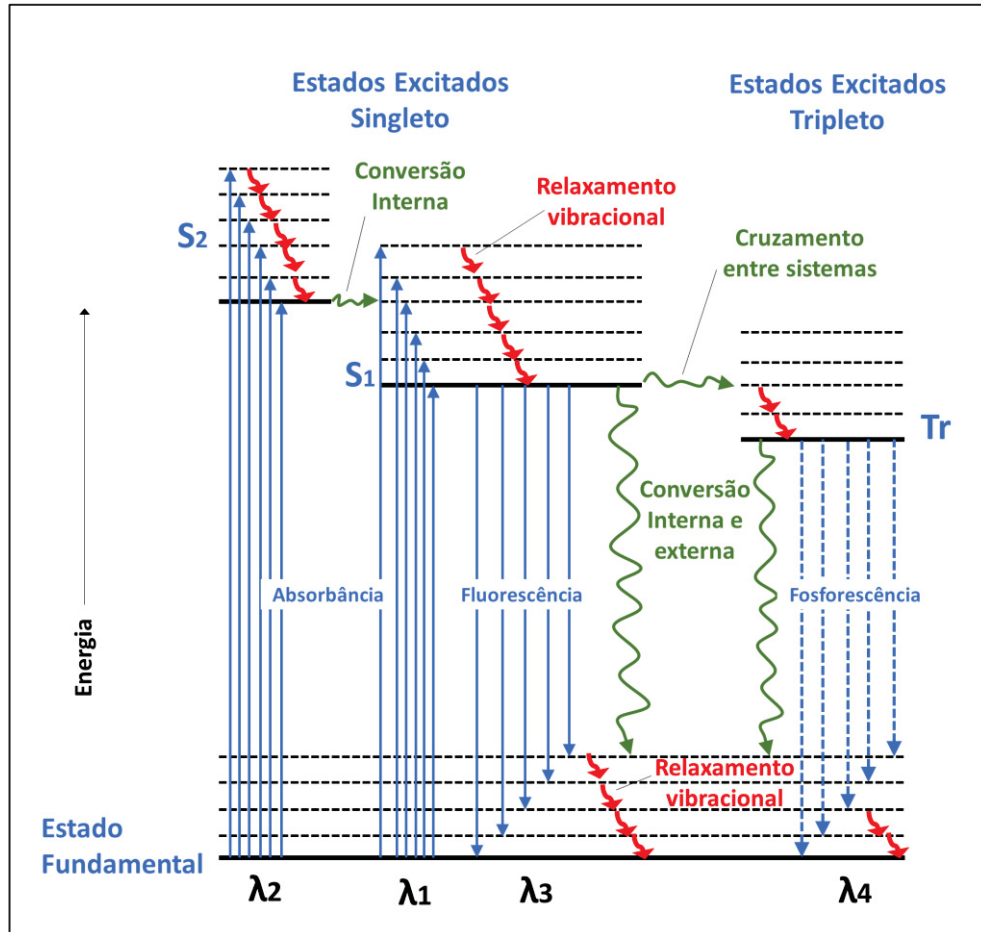
A ocorrência da fluorescência está associada com a formação de um estado excitado singleto (S), que representa uma transição sem alteração da multiplicidade de spin eletrônica a partir do estado fundamental. Já a fosforescência se deve a formação de um estado tripleto (Tr), uma transição com alteração da multiplicidade de spin eletrônica (SKOOG, 2007).

É importante ressaltar que, apesar de existirem outras formas de luminescência (e.g. termoluminescência, quimiluminescência), a fotoluminescência é a mais comum de ser observada. Além disso, dentre os dois tipos de fotoluminescência existentes, fluorescência e fosforescência, a fluorescência ocorre com maior frequência. Desta forma, é comum encontrarmos trabalhos que, erroneamente, se referem aos termos “luminescência”, “fotoluminescência” e “fluorescência” como sinônimos.

O conjunto de átomos responsável pela fluorescência de uma molécula é chamado de fluoróforo. Substâncias fluorescentes são, tipicamente, aromáticas e a fluorescência é decorrente de transições eletrônicas do tipo $\pi^* \rightarrow \pi$ e, em menor escala, $\pi^* \rightarrow n$. Com isso, podemos constatar que insaturações e átomos com elétrons não compartilhados podem tanto atuar como cromóforos e fluoróforos de moléculas orgânicas. Substituintes como grupos hidroxí, metoxi, amino, cianeto e sulfônico têm tendência de amplificar a fluorescência de uma molécula. Já os grupos cetônicos, carboxílicos e halogênios tendem a diminuir a fluorescência e favorecer a fosforescência (SKOOG, 2007).

O mecanismo da fotoluminescência molecular pode ser explicado pelo chamado “Diagrama de Jablonski” visto na Figura 7.

Figura 7 – Diagrama de Jablonski.



Fonte: Adaptado de Lakowicz (2006).

De maneira geral, a energia térmica não é suficiente para popular os estados excitados vibracionais da maioria das moléculas luminescentes à temperatura ambiente. Somente a absorção de um fóton com energia suficiente causa a elevação de elétrons para níveis eletrônicos superiores do tipo singlete (S₂ e S₁). Uma vez que os elétrons se encontram em um estado excitado singlete S₂ (de energia mais elevada), pode ocorrer o processo intramolecular conhecido como “conversão interna”, onde o excesso de energia destes níveis eletrônicos e vibracionais elevados é rapidamente dissipado por vibrações moleculares, deixando o fluoróforo no menor estado vibracional S₁. Este relaxamento ocorre em cerca de 10^{-12} s, e é provavelmente resultado de uma superposição entre diversos estados de energia

semelhantes. Devido a esse rápido relaxamento, o espectro de emissão é normalmente independente do espectro de excitação. Existem raras exceções como fluoróforos que existem em dois estados de excitação ou moléculas que emitem a partir do nível S_2 (LAKOWICZ, 2006).

Além do processo de conversão interna, existe outro processo intramolecular chamado relaxação vibracional. Neste fenômeno ocorre uma perda de energia por parte dos elétrons excitados devido a dissipações pelas vibrações moleculares, colisões com solventes e outros fatores. Isto faz com que a energia do fóton emitido possua menor valor do que aquela do fóton absorvido, ou seja, com comprimento de onda maior ($\lambda_{\text{Emissão}} > \lambda_{\text{Excitação}}$). Para este aumento dos valores dos comprimentos de onda de emissão dá-se o nome de *red-shift* e o fenômeno é chamado de “Deslocamento de Stokes”.

A eficiência quântica, isto é, a fração de fótons que são emitidos em comparação com os que são absorvidos, é um processo puramente cinético ditado pela taxa de emissão de fótons do fluoróforo e sua taxa de decaimentos não-radiativos. Os decaimentos não-radiativos são decorrentes dos chamados processos de desativação. Estes processos podem ser intramoleculares (cruzamento intersistema e relaxamento vibracional) ou então intermoleculares (conversão externa).

Moléculas que possuam estruturas aromáticas, aromáticas condensadas e/ou com alto grau de conjugação tendem a apresentar alta eficiência quântica devido ao grande número de possibilidades de transições do tipo $\pi^* \rightarrow \pi$, dessa forma, componentes heterocíclicos tendem a ter baixas eficiências quânticas devido as transições $\pi^* \rightarrow n$.

Em alguns casos, o efeito de relaxamento vibracional pode ser tão pronunciado a ponto de ocasionar um decaimento não radiativo. Devido a isso, é observado que moléculas que apresentem estruturas mais rígidas possuem uma maior eficiência quântica, pois moléculas mais flexíveis (com maiores graus de liberdade de movimentação) tendem a relaxar por vibração. Devido a este efeito, até mesmo moléculas heterocíclicas, quando apresentam estrutura condensada, podem se tornar fluorescentes devido ao aumento da sua rigidez.

Caso o espectro de absorção de um fluoróforo mostre picos distintos devido aos seus níveis de energia vibracional, seu espectro de emissão, geralmente, mostra o mesmo espaçamento de energia vibracional. Estas ocorrências são chamadas de

“regra da imagem espelho”. Além disso, também existe o “Princípio de Franck-Condon”, que diz que nos casos em que uma transição particular possui maior probabilidade de absorção, a transição recíproca também é mais provável na emissão, considerando que todas as transições eletrônicas sejam “verticais” (sem a alteração da posição do núcleo), caracterizando um processo adiabático. Desta forma, fica claro que os espectros de emissão de um fluoróforo está intimamente associado com seu espectro de absorção, onde diferentes picos de absorção representam diferentes picos de emissão (regra da imagem espelho) com suas intensidades de absorção sendo proporcionais as intensidades de emissão (Princípio de Franck-Condon).

O cruzamento intersistemas é um processo de desativação caracterizado pela inversão do spin eletrônico excitado, o que favorece a fosforescência ($S_1 \rightarrow Tr$). Já a conversão externa representa a supressão colisional que ocorre quando o fluoróforo no estado excitado é desativado através do contato com alguma outra molécula em solução, denominada *quencher*. A intensidade da desativação nestes casos depende da sensibilidade do fluoróforo ao *quencher* e também da concentração deste.

É importante salientar que os fenômenos de deslocamento de Stokes e de conversão externa são dependentes do tempo de vida do estado excitado do fluoróforo, afinal, quanto maior for esse tempo de vida, maior é a disponibilidade da molécula para sofrer alterações do meio. Com isso, constata-se que, diferentemente do espectro de absorção, que não possui sensibilidade à dinâmica molecular e pode prover apenas informações sobre a camada média de solvente adjacente ao cromóforo devido ao seu tempo curto de duração (10^{-14} a 10^{-15} s), a emissão ocorre em um período de tempo maior (10 ns) e possibilita uma oportunidade para as moléculas fluorescentes excitadas interagirem com outras moléculas em solução.

Esta possibilidade de interação entre o fluoróforo e moléculas de solvente pode causar alterações no espectro de emissão do fluoróforo pelos efeitos da polaridade do solvente, por efeitos de solvente específico ou então por transferência ressonante de energia.

Moléculas de solventes polares podem alterar a emissão do fluoróforo para níveis de energia ainda menores devido à estabilização do estado excitado, pois normalmente o fluoróforo adquire um momento de dipolo maior no estado excitado (μ_E) do que no estado fundamental (μ_G) e, após a excitação, os dipolos do solvente podem reorientar ou relaxar nas proximidades de μ_E e diminuir a energia do estado excitado. À medida que a polaridade do solvente aumenta, este efeito aumenta. No

geral, somente fluoróforos que são polares apresentam grande sensibilidade à polaridade do solvente.

Outro efeito comum é decorrente da mudança do estado excitado singlete de n,π^* para π,π^* caso as energias dos mesmos forem próximas o suficiente para permitir a troca com a presença de solventes polares ou de maior caráter prótico.

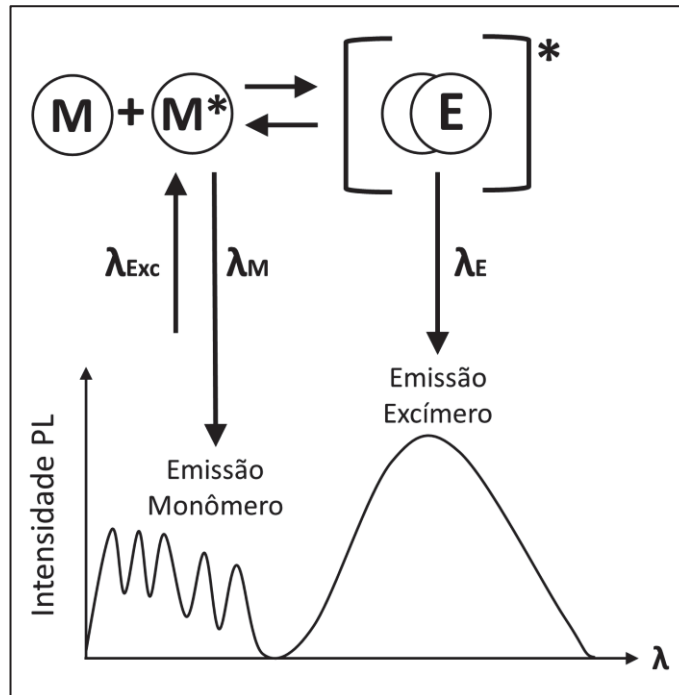
Além destes efeitos, grandes mudanças no espectro de emissão podem ser ocasionadas por interações específicas determinadas pelas propriedades químicas do fluoróforo e apenas algumas moléculas vizinhas de solvente. Estes efeitos específicos podem ocorrer devido a ligações de hidrogênio, solvatação preferencial, química ácido-base ou interações de transferência de carga. Tais interações específicas solvente-fluoróforo podem ocorrer no estado fundamental ou somente no estado excitado. No caso de interações exclusivas do estado excitado, a adição de solvente não deve afetar o espectro de absorção do fluoróforo.

Interações fortes entre fluoróforo e solvente podem gerar emissões largas (não-estruturadas) com *red-shift* e variações de intensidade. Quando há uma mistura de solventes existe uma complexa ponderação entre seus efeitos.

Em casos que o espectro de emissão de um fluoróforo (doador) se sobrepõe ao espectro de absorção de outra molécula (receptor) que também é fluorescente, temos uma transferência ressonante de energia por fluorescência (FRET, do inglês *Fluorescence Resonance Energy Transfer*). Nesses casos não há um fóton intermediário no processo, ou seja, o doador não emite fóton para o receptor. O que existe é uma transferência de energia através de uma interação dipolo-dipolo entre doador e receptor. O complexo formado entre duas moléculas que apresenta transferência de carga é chamado de excíplex. Estes complexos apresentam emissões largas (não-estruturadas) com *red-shift* e de alta intensidade.

Além de todas as possíveis interações com solventes citadas acima, fluoróforos também podem interagir uns com os outros. Estas interações do tipo fluoróforo-fluoróforo entre uma molécula excitada e outra idêntica no estado fundamental formam o que se chama de excímero. Estas estruturas apresentam emissões largas (não-estruturadas) com *red-shift* e variações de intensidade (LAKOWICZ, 2006).

Figura 8 – Esquema ilustrativo da formação de excímeros a partir de duas moléculas idênticas, uma excitada (monômero) e outra no estado fundamental, e suas respectivas emissões características.



Fonte: Adaptado de Lakowicz (2006).

É possível que a emissão de excímeros seja intensificada na presença de determinados solventes polares, os quais podem diminuir a ocorrência de processos não-radiativos nesta estrutura. Este efeito de aumento na intensidade de emissão é comumente chamado de “*enhancing*” (KIM *et al.*, 2019; TAMULY *et al.*, 2006).

Efeitos de temperatura, viscosidade e pH também podem afetar o espectro de emissão dos fluoróforos caso ocorram grandes variações destes parâmetros em um sistema.

3 CENÁRIO CIENTÍFICO

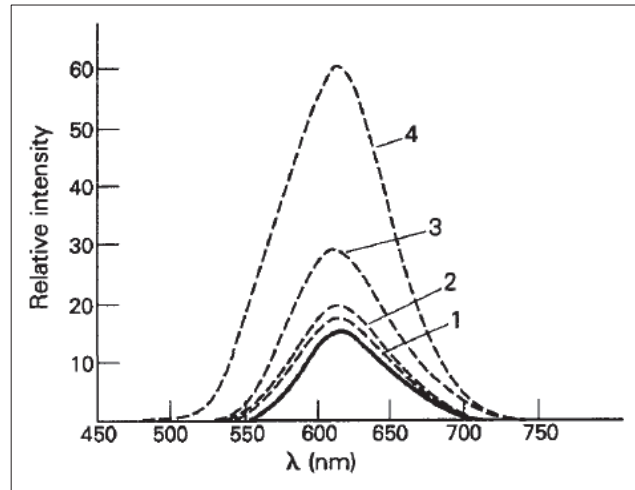
O primeiro trabalho relevante que possui certa semelhança com o presente tema de estudo foi feito por Larson *et al.* (1991), onde os autores realizaram a espectroscopia de PL em diversas resinas naturais e componentes orgânicos comumente encontrados em pinturas de obras de arte. A intenção do estudo era permitir a análise qualitativa da composição destas obras de arte de maneira não-destrutiva. Os diversos componentes foram analisados em separado, à temperatura ambiente, a baixas temperaturas (até 10 K) e com diferentes comprimentos de onda de excitação (λ_{Exc}). Conforme mencionado anteriormente, as resinas naturais apresentam composição química semelhante aos OEs, pois ambos apresentam, muitas vezes, substâncias da família dos terpenos. Os resultados encontrados pelos autores mostraram que, através das medidas da PL, foi possível:

- A diferenciação espectroscópica clara de duas das 15 resinas, pois estas apresentavam picos de emissão bastante distintos das demais;
- A observação da dependência do espectro das amostras com o comprimento de onda de excitação, o que se mostrou útil na caracterização das amostras;
- A constatação de não-homogeneidades espaciais na estrutura das resinas através da mudança microscópica da posição do feixe de excitação na amostra;
- A constatação de efeitos de envelhecimento das amostras pelos seus espectros.

O efeito da temperatura nas resinas provocou o já esperado aumento na intensidade de fluorescência e em algumas amostras também provocou o aparecimento do efeito de fosforescência.

Outro trabalho relacionado do início da década de 90 é o estudo de Ochocka *et al.* (1992). Este estudo avaliou o uso de α - e β -ciclodextrina para o aumento da fluorescência dos terpenos anetol e eugenol. Estes compostos são comumente encontrados em OEs e o estudo buscava uma forma de aumentar os limites de detecção destas substâncias em medidas quantitativas de PL. Dentre os resultados encontrados pelos autores, podemos destacar aqui a fluorescência de ambos os compostos na região do visível através da excitação na região do ultravioleta. O eugenol, principal componente do OE de cravo, quando excitado em 264 nm apresentou uma emissão larga em aproximadamente 620 nm, como pode ser visto na Figura 9.

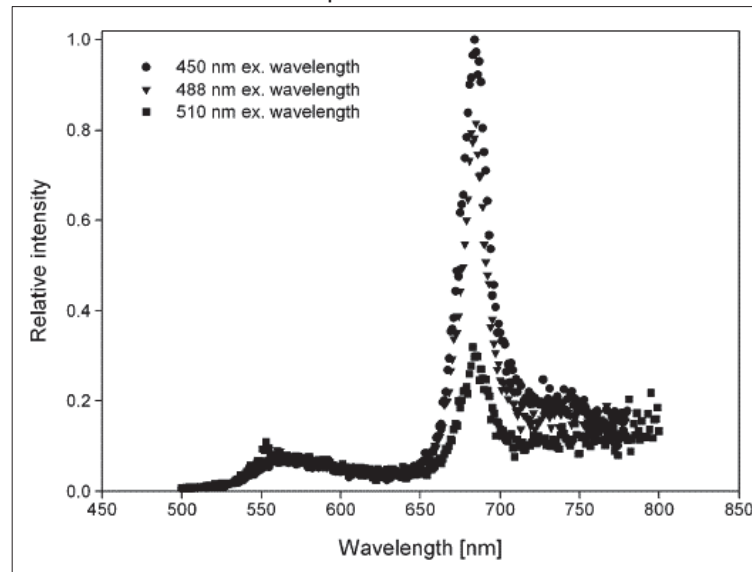
Figura 9 – Espectro de fluorescência do eugenol (1.10^{-5} mol.L⁻¹) em uma solução de metanol-água (40:60, v/v) com a presença de α - e β -ciclodextrina. A linha contínua mostra o espectro do eugenol em solução sem a presença de ciclodextrina, enquanto que as linhas pontilhadas mostram o espectro resultante de diferentes concentrações de ciclodextrina. Concentrações de β -ciclodextrina: 3.10^{-3} mol.L⁻¹ (1) e 9.10^{-3} mol.L⁻¹ (2); Concentrações de α -ciclodextrina: 2.10^{-2} mol.L⁻¹ (3) e $2.25.10^{-2}$ mol.L⁻¹ (4).



Fonte: Ochocka *et al.* (1992).

Um estudo prévio de Kleinegris *et al.* (2010) revelou a luminescência de glóbulos presentes na espécie de alga verde *Dunaliella salina*, os quais eram ricos em carotenoides e clorofila, assim como os epicarpós das cascas de frutos cítricos nos quais se localizam seus OEs. O espectro obtido pelos autores com λ_{Exc} de 450, 488 e 510 nm pode ser visto na Figura 10 e revela um pico de emissão no verde, próximo de 560 nm, atribuído aos carotenoides, e dois picos de emissão no vermelho, em cerca de 670 e 730 nm, atribuídos à clorofila.

Figura 10 – Espectro de emissão de glóbulos ricos em carotenoides e clorofila presentes em algas verdes da espécie *Dunaliella salina*.



Fonte: Kleinegris *et al.* (2010).

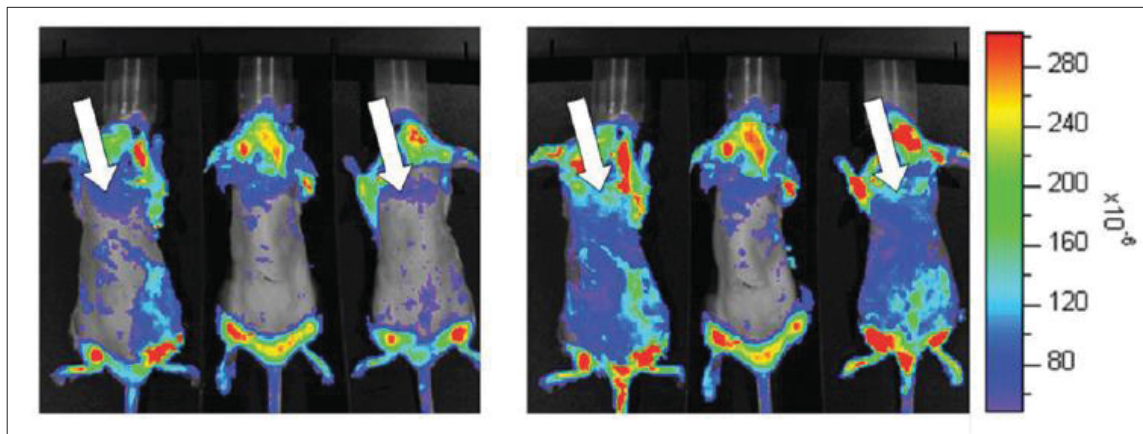
Apraj *et al.* (2011) fizeram um estudo farmacognóstico¹ e físico-químico do extrato da casca de limão. O extrato bruto da casca foi seco e processado na forma de pó para evitar contaminações microbianas. Os autores, na intenção de prover informações para a identificação e padronização do medicamento bruto para assegurar que apenas matérias primas genuínas e uniformes sejam utilizadas em formulações naturais, realizaram o estudo da fluorescência do material em pó. Os resultados revelaram que o material apresentava fluorescência quando excitado por comprimentos de onda na região do ultravioleta. Levando em consideração que o óleo essencial dos frutos cítricos se encontra em suas cascas, este estudo revelou mais uma possível aplicação desta propriedade dos OEs para o controle de qualidade de medicamentos naturais processados. É importante ressaltar que o limão pertence ao gênero *citrus*, assim como a bergamota e a laranja amarga, por exemplo.

Boschi *et al.* (2011) mediram a intensidade de fluorescência de diversos OEs que são comumente utilizados em cosméticos para a pele. Foram analisados os óleos de camomila selvagem, lavanda, manjerona, melissa, menta, orégano, pinho, alecrim, melaleuca e limão. O estudo visava o uso desta propriedade para o monitoramento por imagem *in vivo* destes óleos após a aplicação na pele. Para o estudo de

¹ Farmacognosia: área de estudo farmacêutica voltada para ativos de origens naturais.

imagiologia foram utilizados ratos com óleo de camomila selvagem aplicado sobre sua pele. Este óleo foi escolhido para o estudo de monitoramento por imagem devido às suas já conhecidas aplicações biológicas para a pele e por ter apresentado uma intensidade de fluorescência alta em comparação aos demais óleos, ficando abaixo apenas do óleo de lavanda. O monitoramento *in vivo* do OE de camomila selvagem aplicado sobre a pele dos ratos se mostrou viável por mais de 3 horas (Figura 11), mostrando pela primeira vez, a aplicação dessa propriedade no monitoramento de OEs em organismos vivos.

Figura 11 – Emissão fluorescente *in vivo* do OE de camomila selvagem a partir da pele de ratos. No primeiro quadro encontram-se os ratos sem aplicação do OE e, no segundo quadro, 3 horas após a aplicação. Os ratos indicados pelas setas foram tratados em uma região depilada das suas costas, enquanto que o rato do meio foi usado para controle.



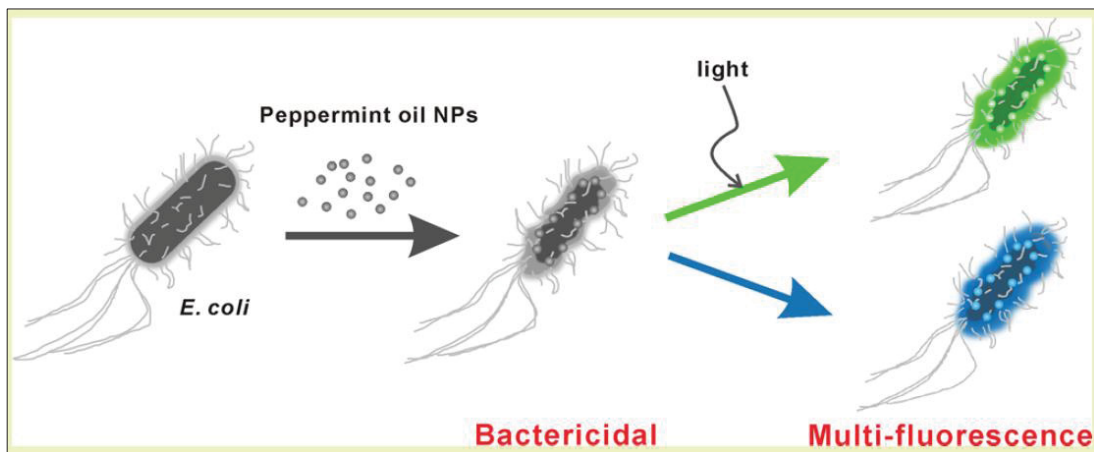
Fonte: Boschi *et al.* (2011).

Momin *et al.* (2012) estudaram a dependência do espectro de fluorescência com o λ_{Exc} nas cascas de frutos do gênero *citrus*. Além disso, medidas de absorvância no UV e análises estatísticas foram realizadas. O estudo visava identificar defeitos nas cascas destes frutos. Os autores conseguiram usar seus resultados para classificar os diversos frutos em grupos de acordo com as suas fluorescências. Dessa forma, julgaram que estas informações seriam úteis no desenvolvimento de um sistema de visão eletrônico baseado no diagnóstico por imagem pela fluorescência das cascas destes frutos para a detecção e separação de frutos defeituosos pelas indústrias do ramo no futuro. Mais uma vez, lembramos que as cascas dos frutos do gênero *citrus* contém seus OEs, e desta forma, constata-se mais uma potencial aplicação da fluorescência destes materiais na imagiologia.

Răileanu *et al.* (2013) usaram técnicas de encapsulamento para incrementar a estabilidade química dos OEs de menta e lavanda, tendo em vista a grande importância comercial destes óleos. Assim como no estudo de Apraj *et al.* (2011), os autores fizeram uso da técnica de PL para caracterizar e identificar a presença dos OEs nas amostras em pó. Nesse estudo a aplicação da técnica de Abs-UV/Vis também merece destaque, pois foi utilizada como uma medida complementar na caracterização e identificação dos OEs nas amostras processadas.

Kung *et al.* (2014) fizeram o processamento de nanopartículas de OE de hortelã para fins bactericidas. As nanopartículas de OE demonstraram uma forte ação bactericida e sua propriedade de fluorescência na porção visível do espectro com dependência de λ_{Exc} tornou possível a microscopia de fluorescência das bactérias analisadas (Figura 12). Dessa forma, assim como no estudo de Boschi *et al.* (2011), os autores ressaltaram a possibilidade do uso de OEs para o imageamento de processos biológicos, indicando também a possibilidade do uso desses materiais como rastreadores multfluorescentes no tratamento de doenças de origem bacteriana.

Figura 12 – Comportamento multfluorescente de bactérias do tipo *E. coli* após a aplicação de nanopartículas de óleo essencial de hortelã sobre elas.



Fonte: Kung *et al.* (2014).

Feudjio *et al.* (2014) construíram matrizes de fluorescência excitação-emissão (EEFM, do inglês *Excitation–Emission Fluorescence Matrix*) para a investigação de OEs. Foram estudados os OEs de tomilho, menta, murta, néroli, laranja, alecrim, schinus, absinto, lavanda e gengibre. Dentre os óleos estudados, algumas amostras pertenciam à mesma espécie, porém, eram de origens diferentes. O processamento

dos resultados da técnica permitiu a diferenciação dos espectros de óleos que apresentavam naturezas bem distintas e espectros muito semelhantes para óleos de mesma espécie com origens diferentes. Com isso, o estudo demonstrou um potencial da técnica para a padronização de OEs. A identificação dos componentes dos óleos responsáveis pela fluorescência foi abordada, mas não foi muito desenvolvida neste estudo, deixando o tópico em aberto para estudos futuros.

Araújo *et al.* (2016) trouxeram uma aplicação até então inédita para a propriedade de PL de OEs. Seu estudo visava a caracterização físico-química, fotoquímica e angiogênica do OE de cúrcuma. A angiogênese diz respeito à ação biológica do óleo de promover o crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes. A caracterização fotoquímica do óleo essencial ocorreu por meio das técnicas de Abs-UV/Vis e PL. As investigações realizadas indicaram que o principal componente fluorescente na amostra não era um componente majoritário e que provavelmente havia a presença do mecanismo de FRET entre os fluoróforos das moléculas presentes e o pigmento curcumina. Com relação ao estudo da ação angiogênica, a presença de efeitos sinérgicos entre os componentes majoritários e minoritários da amostra, evidenciados pelas medidas ópticas, foram dados como os responsáveis pela potencialização da ação biológica deste material. Dessa forma, pela primeira vez, os mecanismos de interações ópticas entre os compostos da amostra foram usados como evidência da sinergia entre as moléculas destes materiais, trazendo assim uma nova utilidade e ressaltando a importância do conhecimento aprofundado da PL dos OEs.

Feudjio *et al.* (2017) trouxeram um novo estudo de EEFM para análise de OEs. Desta vez, os autores adicionaram uma rede neural artificial para o tratamento dos dados espectrais com o intuito de identificar adulterações nas amostras. Os resultados foram satisfatórios e, dessa forma, trouxe uma nova aplicação para EEFM no controle de qualidade destes produtos. Em seu trabalho anterior, os autores apontaram a técnica como uma potencial ferramenta para identificação e padronização de OEs (MBOGNING FEUDJIO *et al.*, 2014), porém, com este novo trabalho que traz a aplicação de redes neurais artificiais, os autores foram capazes de detectar adulterações nos OEs, trazendo esta técnica espectroscópica para esta área de atuação.

4 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

4.1 JUSTIFICATIVA

Conforme foi possível constatar pelos estudos de Feudjio *et al.* (2014, 2017) apresentados previamente, a espectroscopia de PL mostra-se como uma possível candidata para o controle de qualidade de OEs, podendo ser usada na identificação e padronização de OEs; para a diferenciação clara e objetiva de OEs com composições químicas distintas; para a constatação de efeitos de envelhecimento/degradação de OEs; para a diferenciação de OEs com composições químicas semelhantes e também para a detecção de adulterantes em OEs com auxílio de análises estatísticas dos dados espectrais. A técnica apresenta as vantagens de ser não-destrutiva, rápida, necessitar de pouca preparação das amostras.

Mas além das aplicações em controle de qualidade, fica claro com os estudos de Apraj *et al.* (2011), Boschi *et al.* (2011), Larson *et al.* (1991), Ochocka *et al.* (1992) e Răileanu *et al.* (2013), que a técnica de PL pode ser utilizada para a detecção de OEs e seus componentes em diferentes meios e formulações, com destaque para a pesquisa de Boschi *et al.* (2011) que realizou esta detecção *in vivo*.

Somado a tudo isso, a técnica de PL também apresentou a possibilidade de ser usada no diagnóstico por imagem, seja no processo de seleção de frutos cítricos sugerida por Momin *et al.* (2012), seja na detecção de bactérias *in vivo* sugerida por Kung *et al.* (2014).

E, não obstante, a PL mostrou-se útil também no estudo das interações moleculares dos componentes presentes no OE, de forma a promover um melhor entendimento a respeito dos efeitos sinérgicos dessas substâncias nos seus mecanismos ação biológica, conforme mostrado por Araújo *et al.* (2016).

Portanto, uma vez que não existe uma elucidação sobre este assunto na literatura atual, este trabalho visa estudar os mecanismos presentes na PL de OEs tendo em consideração a possível aplicação da técnica para:

- Controle de qualidade de OEs;
- Detecção dos OEs em diferentes produtos como cosméticos e medicamentos;
- Diagnóstico por imagem de frutos ou microrganismos;

- Investigação das interações moleculares entre seus componentes responsáveis pelas suas ações biológicas.

É importante salientar que as possíveis aplicações citadas acima, são todas de interesse nos setores da indústria que consomem e produzem OEs, como os setores farmacêutico, de cosméticos e alimentício.

4.2 OBJETIVO GERAL

Este estudo visa medir e analisar a propriedade óptica de PL, bem como os mecanismos de fluorescência entre os diferentes componentes dos seguintes OEs:

- a) OE de Citronela (*Cymbopogon winterianus*);
- b) OE de Eucalipto Citriodora (*Eucalyptus citriodora*);
- c) OE de Menta Japonesa (*Mentha arvensis*);
- d) OE de Botão de Cravo (*Syzygium aromaticum*);
- e) OE de Laranja Amarga (*Citrus aurantium*);
- f) OE de Bergamota (*Citrus bergamia*).

Conforme já explicado anteriormente, todos os OEs selecionados para este estudo têm uma grande importância comercial, seja no cenário brasileiro ou internacional (BIZZO *et al.*, 2009). Além disso, os óleos cítricos (laranja amarga e bergamota) apresentam semelhanças nas suas composições químicas (KOKETSU *et al.*, 1983), assim como os óleos de eucalipto citriodora e citronela (LORENZO *et al.*, 2000; SU *et al.*, 2006). Já os óleos de cravo e menta possuem grandes diferenças composicionais entre si e entre os demais (LEE & SHIBAMOTO, 2001; SINGH *et al.*, 2005). Desta forma, faz-se possível a realização de análises comparativas e discriminantes entre os diferentes OEs.

Após a investigação do fenômeno de PL destes materiais, uma discussão a respeito da viabilidade das suas diversas aplicações indicadas na literatura também é desejada.

4.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para alcançar o objetivo geral deste trabalho, que é medir e analisar a propriedade óptica de PL de 6 amostras de OEs (bergamota, citronela, cravo, eucalipto, laranja amarga e menta) serão executados os seguintes objetivos específicos:

- Identificar as principais espécies que compõem cada OE via GC-MS e comparar os resultados com a literatura;
- Medir as Abs-UV/Vis dos OEs;
- Medir as Abs-UV/Vis dos principais componentes isolados de cada OE;
- Medir a PL de cada OE;
- Medir a PL de cada componente principal isolado dos OEs
- Preparar misturas contendo os componentes principais e, em alguns casos, pigmentos de origem vegetal, para cada OE estudado;
- Medir as Abs-UV/Vis das misturas de componentes preparadas;
- Realizar a medida da PL das misturas de componentes preparadas;
- Analisar como se dá a composição do espectro de PL de cada óleo e como se dão as interações entre seus componentes.

Como observação final, as medidas de Abs-UV/Vis e PL serão realizadas exclusivamente à temperatura ambiente.

5 METODOLOGIA

5.1 AMOSTRAS

5.1.1 Óleos Essenciais

As amostras de OEs foram compradas da empresa nacional Terraflor Aromaterapia ® (Figura 13). Esta empresa é localizada na Chapada dos Veadeiros, em Goiás, e faz o fracionamento e distribuição de óleos essenciais e vegetais produzidos dentro e fora do Brasil. A empresa já está a mais de 10 anos no mercado e possui certificação pela empresa IBD que atesta a origem 100% natural dos seus produtos (Terraflor Aromaterapia, 2019).

Figura 13 – Logotipo da empresa Terraflor Aromaterapia.



Fonte: Terraflor Aromaterapia (2019).

A empresa IBD (Figura 14), por sua vez, representa a maior certificadora da América Latina de produtos orgânicos e a única certificadora brasileira de produtos orgânicos com credenciamento IFOAM (mercado internacional), ISO/IEC 17065 (mercado europeu-regulamento CE 834/2007), Demeter (mercado internacional), USDA/NOP (mercado norte-americano) e aprovado para uso do selo SISORG (mercado brasileiro), o que torna seu certificado aceito globalmente (IBD Certificações, 2019).

Figura 14 – Selo de produto orgânico aferido pelo Ministério da Agricultura (esquerda) e pela IBD (direita).

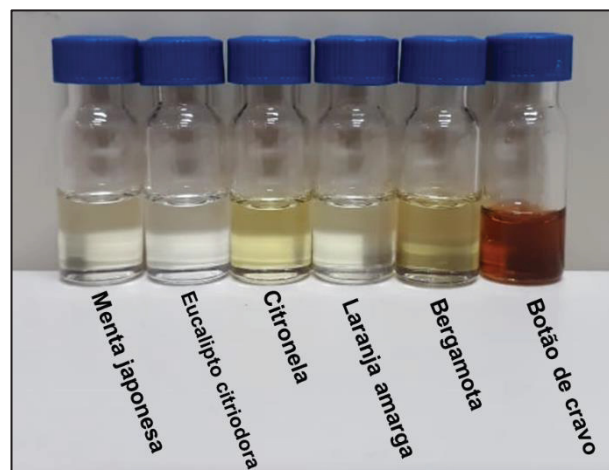


Fonte: IBD Certificações (2019).

Conforme mencionado anteriormente, foram adquiridos os seguintes OEs para análise: citronela (*Cymbopogon winterianus*), eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*), menta japonesa (*Mentha arvensis*), botão de cravo (*Syzygium aromaticum*), laranja amarga (*Citrus aurantium*) e bergamota (*Citrus bergamia*). Estes produtos são vendidos em volumes de 10 mL contidos em um vidro âmbar com gotejador e tampa.

O aspecto destas amostras de OEs pode ser visualizado na Figura 15. Os óleos de menta japonesa e eucalipto citriodora se apresentam como líquidos incolores, límpidos e translúcidos. Enquanto isso, o óleo de citronela e os óleos cítricos apresenta uma coloração amarelada e o OE de botão de cravo apresenta uma coloração marrom-castanho.

Figura 15 – Aspecto das amostras de óleos essenciais adquiridas.



Fonte: O autor.

Segundo dados presentes nos rótulos dos produtos, os OEs de citronela, eucalipto citriodora, menta e cravo foram obtidos por hidrodestilação, enquanto que os OEs cítricos de laranja amarga e bergamota foram extraídos por prensagem a frio. No entanto, o fornecedor não apresenta informações precisas a respeito da composição do óleo adquirido, apenas as mesmas faixas de concentração de componentes encontradas na literatura.

5.1.2 Componentes isolados dos óleos essenciais

Os diferentes compostos isolados que são comumente encontrados nos OEs estudados neste trabalho foram obtidos através de uma doação feita pela indústria de fragrâncias e sabores Givaudan do Brasil Ltda (Figura 16), localizada na cidade de Jaguaré - SP.

Figura 16 – Logotipo da empresa Givaudan do Brasil Ltda.



Fonte: Givaudan (2019).

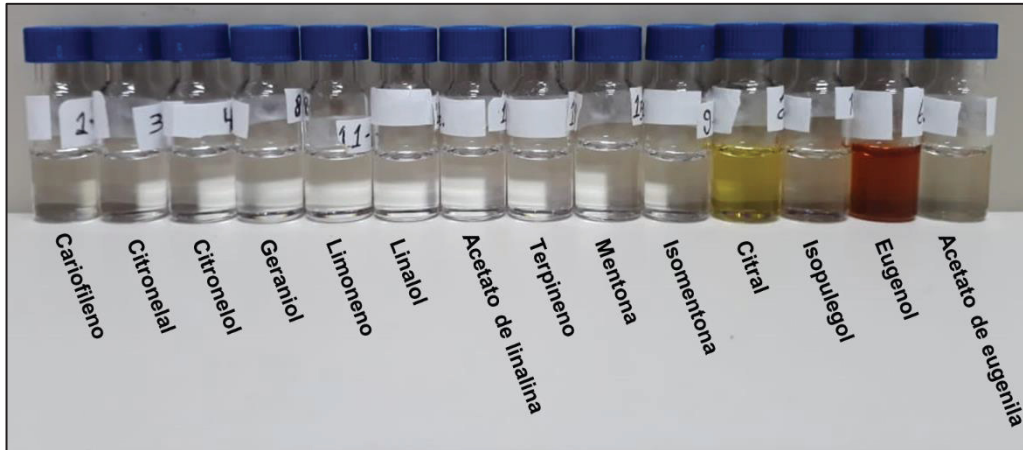
Através desta doação foram adquiridos 10 mL dos seguintes terpenos e compostos aromáticos presentes nos OEs estudados neste trabalho:

1. Cariofileno;
2. Citronelal;
3. Citronelol;
4. Eugenol;
5. Acetato de Eugenila;
6. Terpineno;
7. Geraniol;
8. Isopulegol;
9. Isomentona;
10. Mentona;
11. Limoneno;
12. Linalol;
13. Acetato de Linalina;
14. Citral.

Vale ressaltar que o composto conhecido como citral é, na verdade, uma mistura de dois isômeros estruturais. O trans-isômero é conhecido por geranial ou citral A, enquanto que o cis-isômero é conhecido como neral ou citral B.

A maioria destes componentes citados apresentam um aspecto límpido, incolor e translúcido, com exceção dos componentes citral e eugenol que possuem uma coloração amarelada e marrom-castanho, respectivamente (Figura 17).

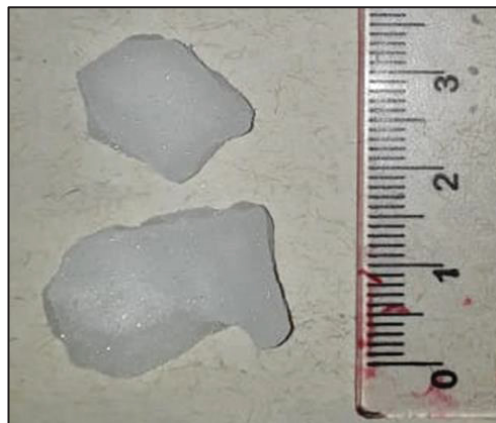
Figura 17 - Aspecto das amostras de componentes individuais de óleos essenciais em estado líquido.



Fonte: O autor.

Além dos compostos citados acima, que se apresentam na forma líquida à temperatura ambiente, também foram doadas 50 gramas do composto mentol, que se apresenta sólido na mesma condição (Figura 18).

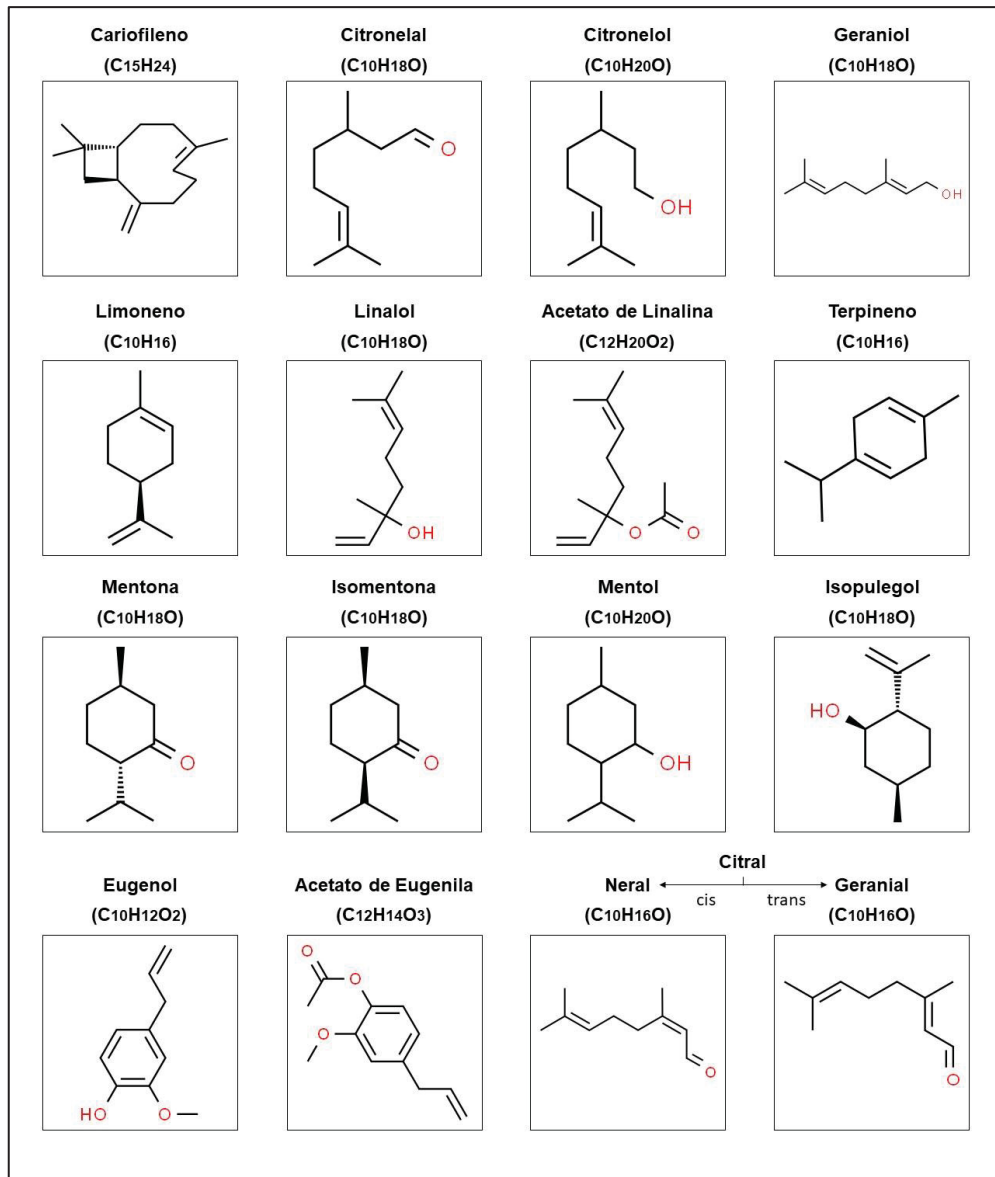
Figura 18 - Amostra de mentol em estado sólido.



Fonte: O autor.

Todos os componentes doados possuem grau de pureza analítico (P.A.), ou seja, 99% de pureza ou superior. Além disso, as estruturas químicas destes compostos (terpenos, terpenóides e aromáticos) podem ser vistas na Figura 19.

Figura 19 – Estrutura química dos diversos componentes de óleos essenciais utilizados neste estudo.



Fonte: Adaptado de ChemSpider.

Uma vez que algumas análises necessitaram investigar a influência do pigmento clorofila na composição do espectro de alguns OEs, este composto também precisou ser obtido. Porém, diferentemente dos demais, estes pigmentos foram extraídos em laboratório, de maneira artesanal e com menor grau de pureza, conforme será explicado adiante.

5.1.3 Misturas entre componentes

Uma vez definido quais interações entre diferentes componentes serão estudadas e suas devidas proporções mássicas, a fabricação destas amostras de misturas é realizada de forma bem simples.

No presente trabalho, foi estipulada uma massa total de 900 mg para cada mistura (amostra), pois, em face da densidade média dos componentes (da ordem de ~800 mg/mL) almejou-se um volume de amostra de aproximadamente 1 mL, que é o volume estimado de cubetas utilizadas nas medidas de absorção óptica.

Através do produto entre a fração mássica de um dado componente e a massa total da mistura, obtém-se a massa de cada componente que será utilizada para uma dada amostra de mistura. Essa quantidade de material foi gotejada cautelosamente, com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 1 mL e uma pera de laboratório, dentro de um pequeno frasco de vidro em uma balança analítica (com quatro casas decimais) tarada. O procedimento se repete para todos os componentes planejados para a mistura até que a amostra esteja completa.

Um dos componentes que foge desse procedimento é o mentol, dado se apresentar no estado sólido. O mentol foi moído com o auxílio de um almofariz e um pistilo. O mentol em pó foi adicionado manualmente com o uso de uma espátula.

Outro componente que requereu procedimento diferenciado foi a clorofila, que foi obtida em pequena quantidade em estado sólido, conforme o procedimento descrito a seguir, mas de manuseio menos elementar. A incorporação nas misturas foi através do contato direto do extrato de clorofila obtido com a mistura de componentes previamente preparada. Portanto, não houve um controle preciso a respeito da quantidade de clorofila dissolvida em cada mistura no momento do preparo, mas este valor pôde ser aferido em um segundo momento através de medidas de Abs-UV/Vis, conforme será explicado no decorrer deste trabalho.

5.1.3.1 Procedimento de extração de clorofila

O procedimento utilizado para a obtenção de clorofila de origem vegetal descrito a seguir foi adaptado da prática descrita no livro-texto “Introdução a Métodos Cromatográficos” de Collins *et al.* (1995).

Primeiramente, diversas folhas de beterraba são colocadas para secagem em estufa por 24 horas a 100 °C. Depois de secas, são separadas 3,0 g de folhas para serem trituradas em um almofariz. Em seguida, em um béquer de 50 mL são adicionados 10 mL de diclorometano e as folhas secas trituradas. Com um bastão de vidro, a mistura é agitada por 5 minutos. O extrato resultante é então filtrado com uma folha de papel filtro. O filtrado resultante é então concentrado em banho-maria, sob a capela, até chegar no volume de 2 mL.

Na sequência, faz-se necessária a preparação de uma coluna de separação por cromatografia. A coluna consiste em um tubo de vidro com uma das pontas afunilada. Esta coluna é então colocada em um suporte na posição vertical, com a ponta afunilada virada para baixo. No fundo da coluna é colocado um pequeno chumaço de algodão para que, em seguida, sejam adicionadas 2,0 g de sílica de coluna previamente pesada. São aplicadas pequenas batidas na coluna para que a sílica fique bem empacotada. O extrato obtido anteriormente é então solubilizado em uma pequena quantidade de diclorometano (cerca de 0,5 mL). Ao extrato é adicionado um pouco de sílica e esta mistura é então agitada sob aquecimento para a incorporação do extrato à sílica. Ao final, é obtido um pó fino e solto.

Este preparo é então transferido para o topo da coluna e um outro pequeno chumaço de algodão é adicionado logo acima.

A partir deste ponto começa o processo de eluição da coluna. Primeiro é adicionada com o auxílio de uma pipeta Pasteur uma mistura de solventes composta por hexano e acetato de etila na proporção 7:3 (v/v), respectivamente. Ao atravessar a coluna, esta mistura de solventes retira do extrato incorporado uma fração rica em carotenoides de cor alaranjada forte. Em seguida, sem deixar a coluna secar, é adicionada uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção 9:1 (v/v), respectivamente. A segunda fração resultante possui coloração esverdeada e é rica em clorofila e outras substâncias semelhantes.

A segunda fração é recolhida e, para fins de caracterização, é submetida a uma análise de Abs-UV/Vis. É sabido, conforme já dito anteriormente, que as clorofilas possuem um pico de absorbância na região de 670-680 nm.

Após a caracterização, um volume definido da solução é deixado em uma capela para evaporação do solvente. O material sólido resultante, de coloração verde escura e rico em clorofila, pode então ser usado para a preparação de amostras por diluição nos demais componentes dos OEs.

Este material resultante também é pesado para determinação da sua concentração prévia em solução. Dessa forma, com os dados da sua concentração e da sua absorbância, torna-se possível a realização de uma estimativa da quantidade de clorofila nas demais misturas preparadas pela medida das suas respectivas absorbâncias e pela aplicação da Lei de Lambert-Beer ((2). Vale destacar que esta estimativa pode ter um erro considerável associado, devido à diferença entre os solventes utilizados.

5.2 CROMATOGRAFIA GASOSA

As medidas de cromatografia gasosa foram realizadas no Departamento de Química da UFPR com um equipamento de GC-MS Shimadzu ® modelo TQ8040, equipado com amostrador automático e controlador automático de fluxo, com a finalidade de identificar os principais componentes das amostras de OEs.

Todos parâmetros utilizados para a análise foram obtidos através de um modelo de medição pré-concebido pelo Grupo de Pesquisas de Óleos Essenciais existente no Departamento de Química da UFPR, o qual era adequado às nossas amostras de OEs. Estes parâmetros podem ser vistos na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros de equipamento das medidas de GC-MS.

Cromatografia Gasosa	
Aparelho	GC-MS Shimadzu ® modelo TQ8040
Coluna	SH-RTX-5MS (espessura 0,25 µm; comprimento 30,0 m; diâmetro 0,25 mm)
Gás de arraste	Hélio
Velocidade linear do gás de arraste	40,0 cm/s
Modo de injeção	Split
Fluxo total	40,2 mL/min
Fluxo da coluna	1,20 mL/min
Fluxo de purga	3,0 mL/min
Temperatura do injetor	250 °C
Temperatura do forno da coluna	60 °C
Programação da temperatura	- 60 °C durante 3 min - Aquecimento até 250 °C a 5 °C/min - Estabilização à 250 °C por 4 min - Tempo total: 45 min
Espectroscopia de massa	
Temperatura da fonte de íons	200 °C
Temperatura da interface	300 °C
Tempo de corte de solvente	3 min

A análise qualitativa dos compostos foi realizada pela comparação dos seus respectivos valores de índices de retenção obtidos experimentalmente com os índices presentes nos bancos de dados da Shimadzu e do NIST (*National Institute of Standards and Technology*). O fator de similaridade representa a razão entre os índices de retenção mensurados para estes compostos com os índices presentes nos bancos de dados.

As soluções para análise foram preparadas a partir das amostras de OEs comerciais adquiridas. Primeiramente, foram recolhidos, com o auxílio de uma micropipeta, 20 µL de OE para serem diluídos em 980 µL de hexano de grau cromatográfico. Em seguida, 20 µL desta solução foram recolhidos para serem diluídos em outros 980 µL de hexano. Por fim, este procedimento foi realizado mais uma vez, totalizando três diluições de 20 µL em 980 µL de hexano.

5.3 MEDIDAS DE ABSORBÂNCIA

Para as medidas de Abs-UV/Vis foi utilizado um espectrômetro do fabricante Perkin-Elmer®, modelo Lambda 1050, disponível no laboratório de nosso grupo de pesquisa, o qual permite medidas de absorvância na região do ultravioleta, visível e na borda do infravermelho próximo.

As amostras são inseridas em cubetas de quartzo para análise, uma vez que o vidro apresenta uma absorção pronunciada na região do UV e poderia prejudicar as medidas.

A região analisada desta propriedade se estendeu de 250 nm até 800 nm onde o aparelho apresenta uma resolução de 1 nm com uma incerteza $\leq 0,05$ nm.

5.4 MEDIDAS DE FOTOLUMINESCÊNCIA

O equipamento para a realização da PL, também existente em nosso laboratório. O laser utilizado para as medidas é um laser de estado sólido azul (474 nm) da fabricante Laserline®, com potência de 50 mW. A escolha deste comprimento de onda de excitação foi dada por motivos práticos. Normalmente, opta-se por comprimentos de onda de maior energia (menores valores de λ) para análises de PL molecular, pois almeja-se uma excitação eletrônica pronunciada para a observação do fenômeno. Logo, comprimentos de onda na região do UV são comumente usados. No entanto, como já foi dito antes, a radiação eletromagnética exerce um papel crucial nos processos de degradação dos OEs e este fenômeno é ainda mais pronunciado com radiação UV. Portanto, afim de mitigar os efeitos de degradação dos OEs estudados durante as análises, optou-se pelo laser disponível que emite fótons de alta energia dentro da região do visível, o laser azul.

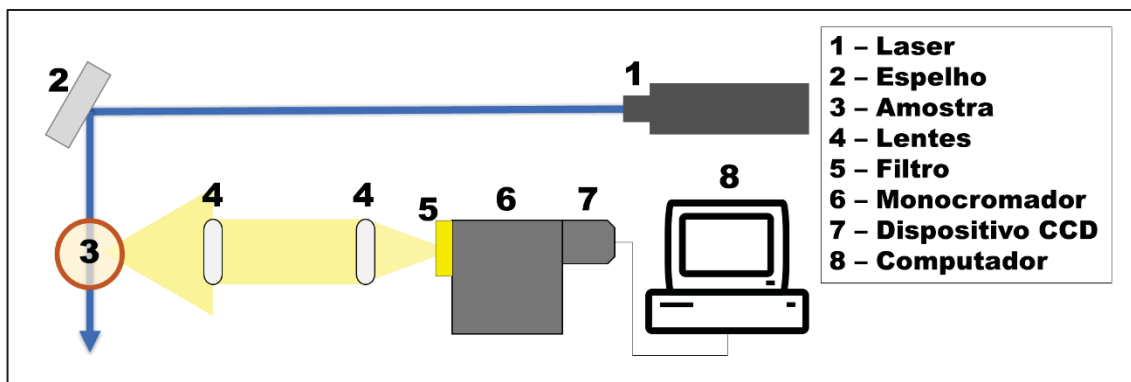
Este laser é direcionado por espelhos até as amostras, localizadas em um suporte. O sinal de PL produzido pela amostra é então direcionado por um sistema de lentes para um espectrômetro controlado por computador, que decompõe os diversos comprimentos de onda através de uma rede de difração, permitindo obter a função de intensidades de cada um deles. Na entrada do espectrômetro pode ser adicionado um filtro óptico que absorve sinais indesejados (Figura 20). Para este estudo, foi utilizado um filtro amarelo do tipo “passa-baixa”, que absorve fortemente em comprimentos de onda inferiores a 500 nm. Isto foi feito para bloquear o sinal do laser, em 474 nm.

Utilizou-se um monocromador Andor modelo Shamrock de 30 cm, com uma câmera CCD (*Charge Coupled Device*) Andor iDus, usada como detector. Todo este aparato é montado sobre uma mesa óptica de mármore que fornece estabilidade aos experimentos.

As amostras de OEs são inseridas em pequenos frascos de vidro, os quais são vedados para evitar a evaporação dos compostos voláteis. Em todas as medições de propriedades ópticas, é necessário que as superfícies envolvidas (lentes, espelhos, frascos) estejam livres de qualquer agente contaminante que tenha aderido a elas. A limpeza é primeiramente feita com um tipo de tecido próprio para limpeza deste tipo de superfície sensível, sem causar desgaste mecânico ou riscos. Em seguida, com o auxílio de um algodão levemente embebido em acetona, é feita uma nova limpeza, e por fim, os resíduos deixados por esse solvente são removidos com álcool isopropílico. O manuseio deve ser feito com luvas, para evitar contaminação das superfícies com fluidos corporais do operador.

O correto alinhamento do feixe do laser é de fundamental importância em qualquer medição. O alinhamento compreende também o ajuste do feixe espalhado pela amostra na direção da abertura da fenda do espectrômetro. Depois desse ajuste, procura-se um ajuste fino com o objetivo de se obter a máxima intensidade para o sinal capturado pelo detector, o que recebe após atravessar o espectrômetro (TABATA *et al.*, 2007).

Figura 20 – Esquema ilustrativo do aparato experimental de fotoluminescência.



Fonte: O autor.

É importante também que seja medido o espectro de PL de um frasco de vidro vazio antes de analisar as diversas amostras inseridas neste recipiente. Esta medida,

chamada de “branco”, é necessária para que sejam discernidos os picos de emissão atribuídos à amostra e aqueles que pertencem aos demais aparatos presentes no experimento.

Algumas bateladas de medidas foram feitas com o intuito de comparar os espectros de PL de amostras diferentes. Nestes casos, as medidas foram feitas de maneira padronizada, usando os mesmos parâmetros operacionais para todas as amostras, demarcando uma posição fixa para todos os frascos de vidro e executando todas em sequência, no menor intervalo de tempo possível, para que fossem evitadas alterações nos espectros decorrentes de mudanças no aparato experimental.

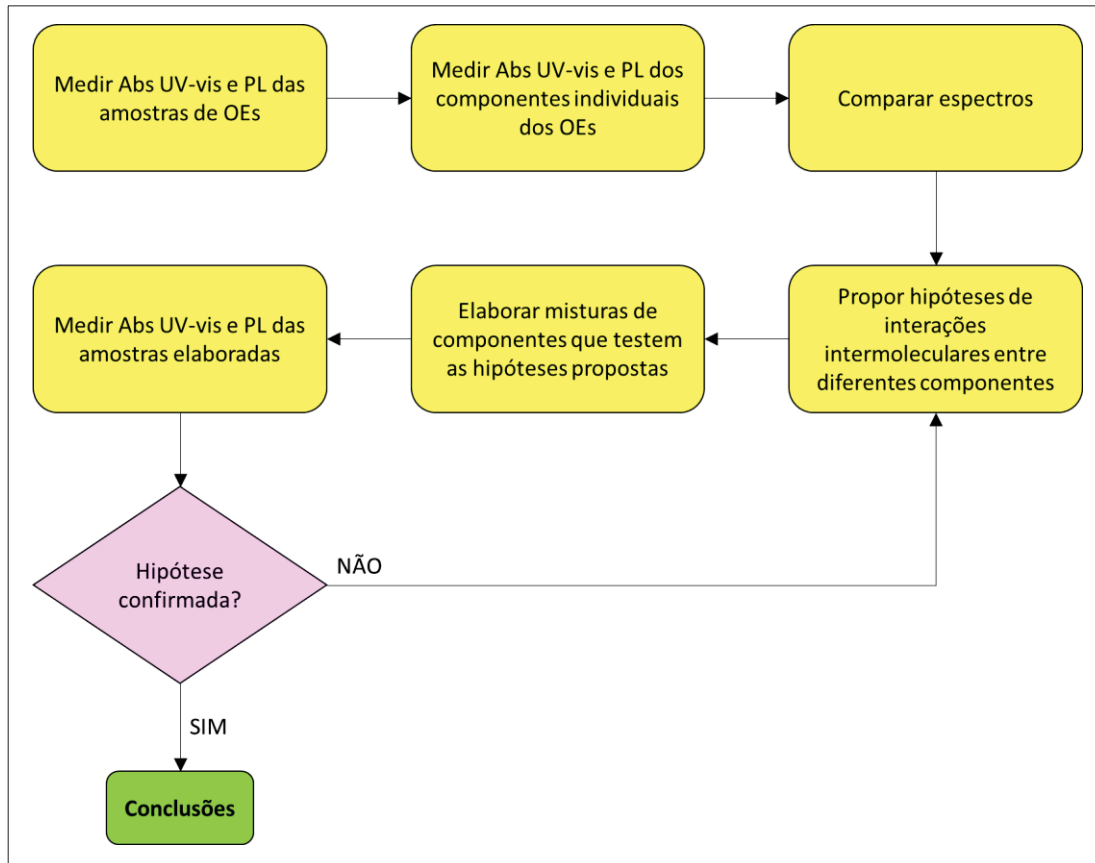
5.5 PROCEDIMENTO DE INVESTIGAÇÃO

É muito importante ressaltar que a escolha das misturas de componentes e suas respectivas composições não foi arbitrária. A elaboração dessas amostras seguiu o procedimento descrito no fluxograma presente na Figura 21.

Primeiramente, foram realizadas as medidas ópticas de Abs-UV/Vis e PL, conforme descrito anteriormente, dos OEs e de seus respectivos principais componentes. A partir da comparação dos dados obtidos por estas medidas e da análise das estruturas químicas dos componentes presentes em cada amostra de OE, foram elaboradas hipóteses de possíveis interações intermoleculares entre diferentes funções orgânicas de diferentes substâncias. A partir disso, usando como base a proporção mássica média entre estes componentes no seu respectivo OE correspondente, foi definida a amostra de mistura, com seus devidos componentes e frações mássicas.

Uma vez que a mistura estava pronta, seguindo os procedimentos de elaboração descritos previamente, foi feita a caracterização de suas propriedades ópticas de Abs-UV/Vis e PL. Caso o espectro resultante da mistura confirmasse as hipóteses prévias ou demonstrassem algum efeito considerável de interação, isto seria considerado um resultado positivo. No caso de nenhum efeito de interação intermolecular considerável aparecer na amostra de mistura analisada, este resultado também seria registrado, mas considerado insuficiente e então novas hipóteses e novas misturas se fariam necessárias. Uma vez que os principais mecanismos de PL presentes nos OEs fossem constatados nas misturas propostas, o processo de investigação seria dado como satisfatório e finalizado.

Figura 21 – Fluxograma do processo de investigação dos mecanismos de fotoluminescência dos óleos essenciais.



Fonte: O autor.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

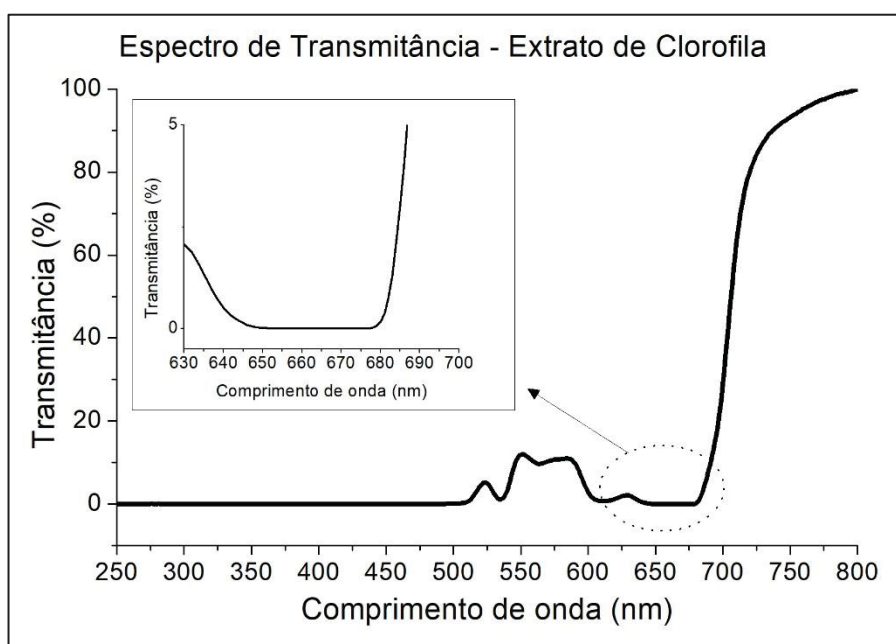
6.1 EXTRAÇÃO DE CLOROFILA

Seguindo o procedimento de extração de clorofila por cromatografia de coluna a partir de folhas de beterraba descrito previamente, foi obtido um extrato de coloração verde escura contendo clorofila e demais pigmentos semelhantes dissolvidos em hexano e acetato de etila na proporção 9:1 (v/v).

Um volume de 10 mL deste extrato foi reservado e deixado em uma capela para evaporação do solvente. A diferença de massa entre o béquer após a evaporação do solvente e o béquer seco e limpo pesado anteriormente revelou uma massa de 6,5 mg de pigmentos. Considerando o volume prévio de 10 mL de solventes, temos que a concentração do extrato obtido foi de 0,65 mg/mL de clorofila e demais pigmentos.

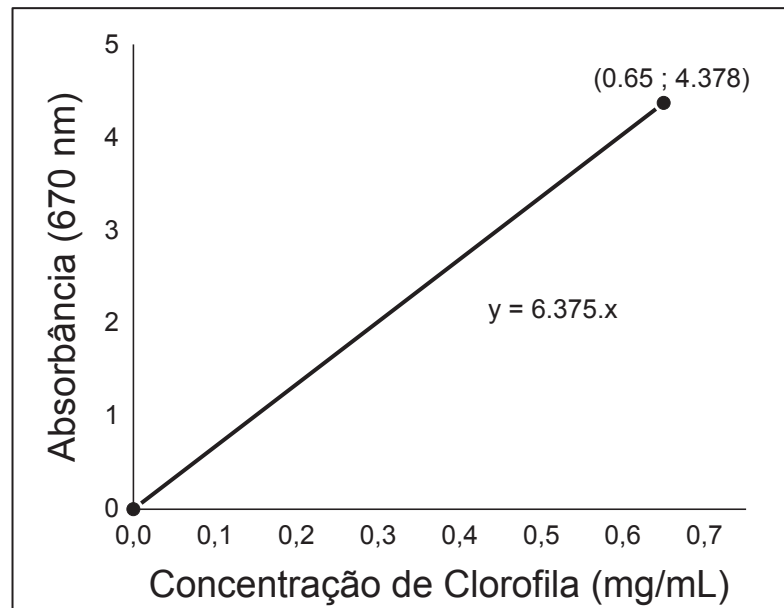
Para a caracterização da amostra foi utilizada a técnica de Abs-UV/Vis. O gráfico presente na Figura 22 mostra o espectro de transmitância do extrato de pigmentos obtido. Como é possível observar, o pico de absorção (vale de transmitância) na região de 670-680 nm, típico da clorofila, está presente no extrato.

Figura 22 – Espectro de transmitância referente ao extrato de pigmentos rico em clorofila obtido pelo procedimento de extração por cromatografia de coluna.



O valor da absorbância obtido para o extrato em $\lambda = 670 \text{ nm}$ é de 4,378. Desta forma, é possível obter uma reta que representa a relação linear entre a concentração deste componente e sua absorbância dada pela Lei de Lambert-Beer (Figura 23). A reta resultante apresentou um coeficiente angular de 6,375 mL/mg.

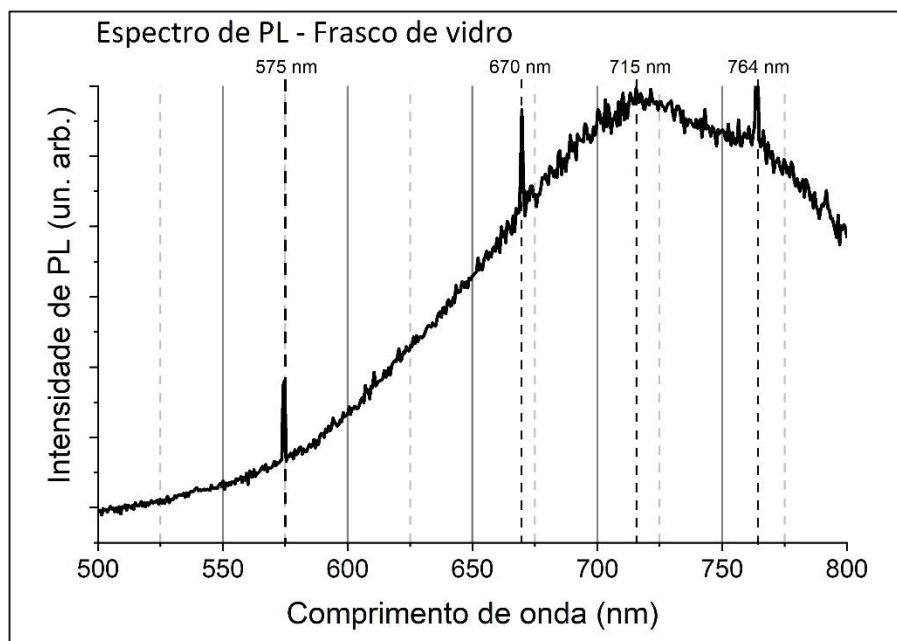
Figura 23 – Reta que relaciona a absorbância óptica em 670 nm e a concentração de clorofila dissolvida em solvente orgânico (Lei de Lambert-Beer).



6.2 FOTOLUMINESCÊNCIA – MEDIDA DE “BRANCO”

Conforme mencionado anteriormente, é necessário medir o espectro resultante de um frasco de vidro vazio (sem amostra no seu interior). Desta forma é obtido o chamado espectro do “branco”, ou seja, a parcela do espectro que é atribuída aos instrumentos presentes no aparato experimental. O espectro de PL do frasco de vidro vazio pode ser visto na Figura 24.

Figura 24 – Espectro de fotoluminescência de um frasco de vidro vazio (“branco”). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.

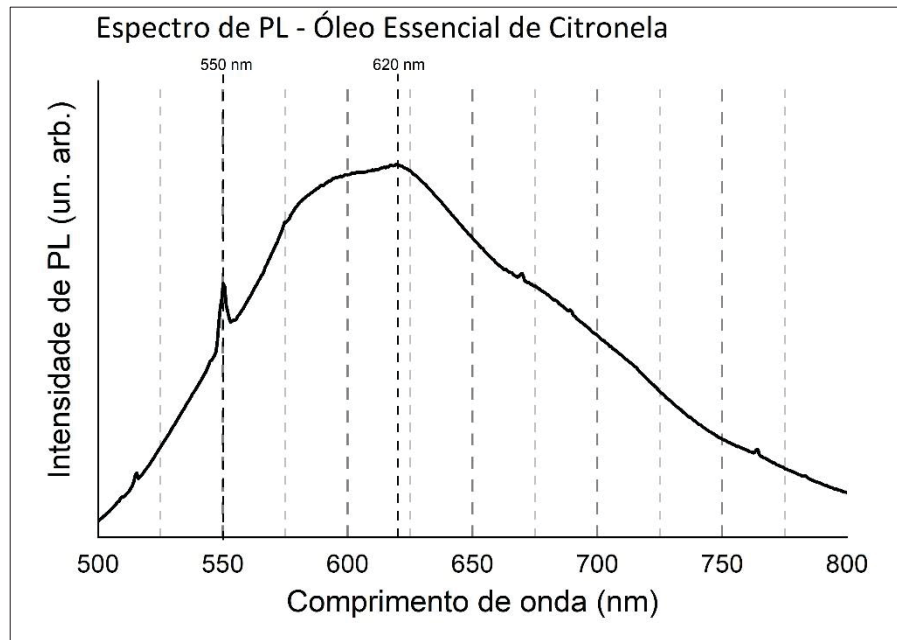


Com o espectro do branco obtido é possível observar picos de emissão de baixa intensidade em 575, 670, 715 e 764 nm. Desta forma, estes pequenos picos serão desconsiderados nas futuras medidas de fotoluminescência das diversas amostras presentes neste trabalho.

6.3 FOTOLUMINESCÊNCIA – ÓLEOS ESSENCIAIS

As seis amostras de OEs (citronela, eucalipto citriodora, menta japonesa, botão de cravo, laranja amarga e bergamota) foram submetidas à análise de PL conforme o procedimento descrito na seção anterior. O espectro de PL obtido para o OE de citronela pode ser visto na Figura 25.

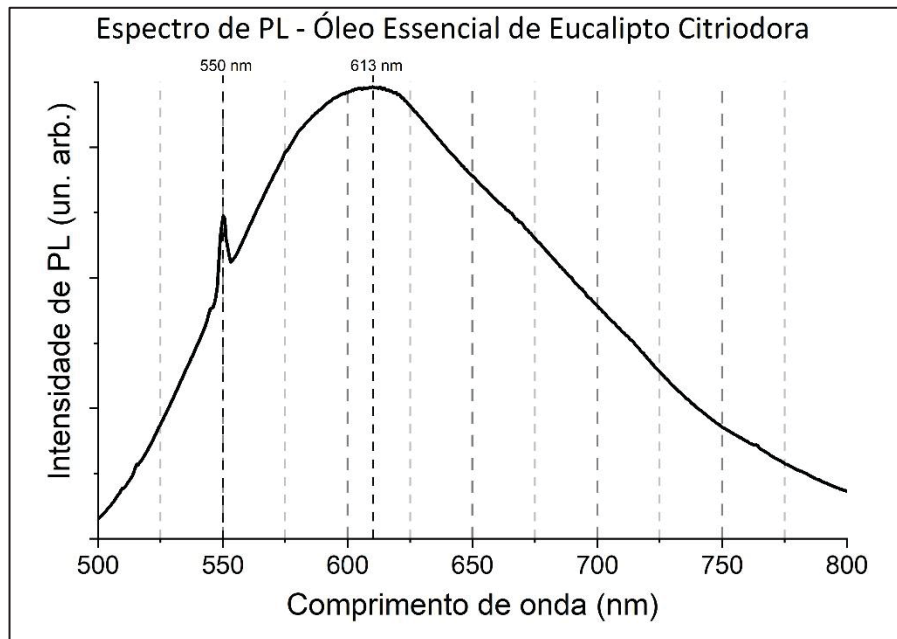
Figura 25 – Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*).
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O espectro de PL do OE de citronela revela duas emissões estruturadas, com picos estreitos de emissão em 515 nm e 550 nm, sendo que a primeira apresenta uma menor intensidade em relação à segunda, que se mostra mais pronunciada. No entanto, a emissão de maior intensidade deste óleo se deve a uma emissão larga, não-estruturada e assimétrica, com um pico de emissão localizado em torno de 620 nm.

O espectro de PL do OE de eucalipto citriodora está apresentado na Figura 26.

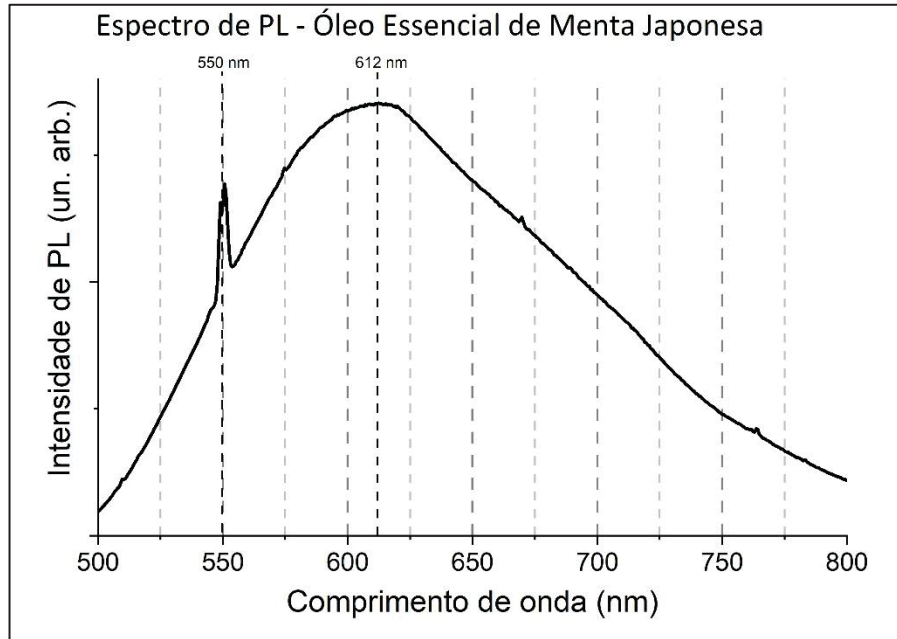
Figura 26 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



Para o OE de eucalipto citriodora, o espectro de PL revela uma emissão estruturada intensa em 550 nm, semelhante a um dos picos de emissão presente no OE de citronela. Vem acompanhado também de uma emissão larga e assimétrica, com máximo de emissão em torno de 613 nm.

O OE de menta japonesa tem seu espectro de PL mostrado no gráfico da Figura 27.

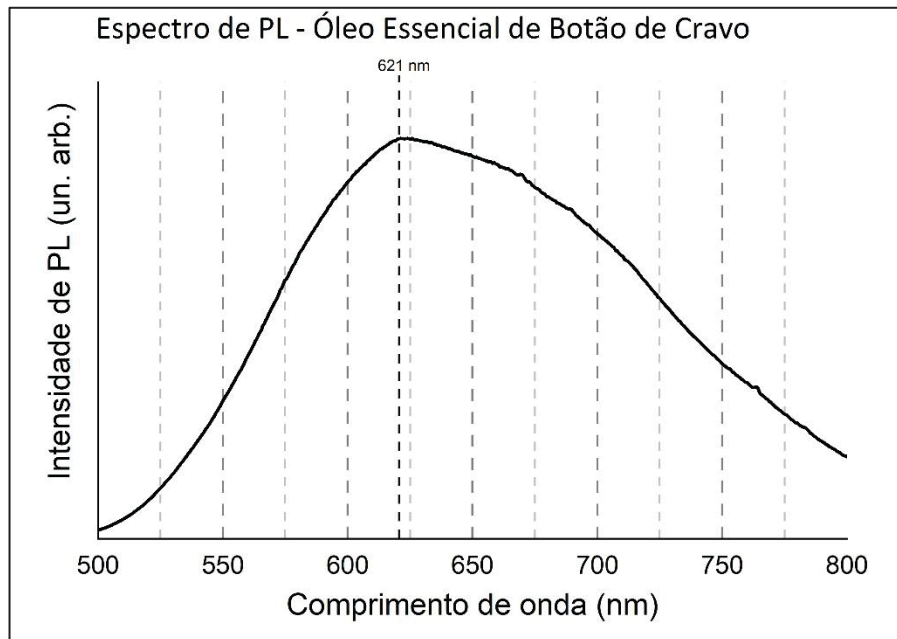
Figura 27 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa (*Mentha arvensis*).
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A PL do óleo de menta japonesa mostra duas emissões estruturadas e muito próximas, com intensidade mais elevada, em 549 e 550 nm. Da mesma forma que os dois OEs mostrados anteriormente, esta amostra possui uma emissão larga e assimétrica como sua emissão mais intensa, com máximo de emissão em 612 nm. É interessante analisar que as emissões largas não-estruturadas de maior intensidade dos OEs de menta japonesa e de eucalipto citriodora possuem formatos e máximos de intensidade muito semelhantes, apesar das suas composições muito distintas.

O espectro de PL do OE de botão de cravo está presente no gráfico da Figura 28.

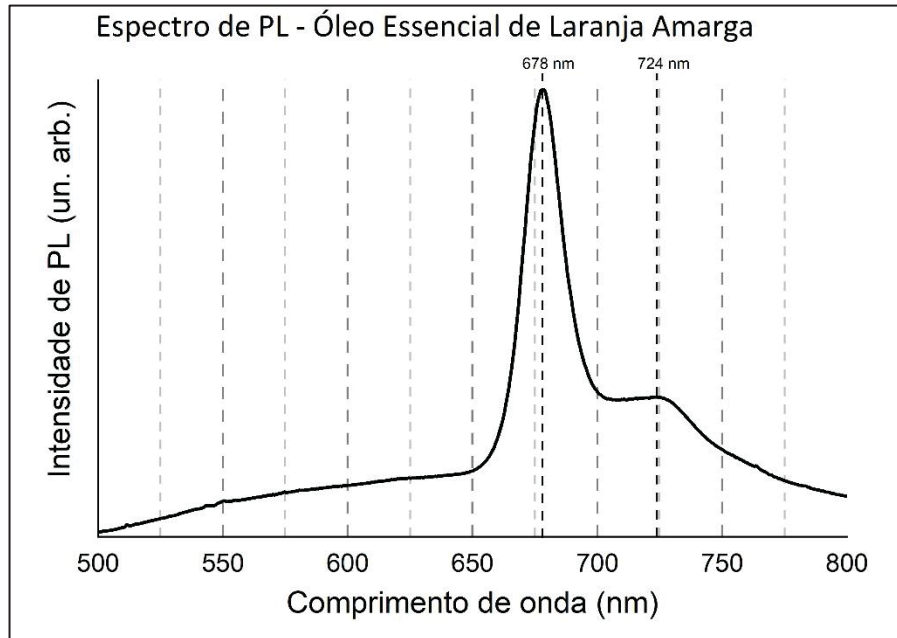
Figura 28 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de botão de cravo (*Syzygium aromaticum*). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



Para o OE de botão de cravo, o espectro de PL revela apenas uma grande emissão intensa não-estruturada, larga, assimétrica e com um máximo de emissão em 621 nm. Diferentemente das amostras anteriores, este OE não apresentou nenhuma emissão estruturada na região analisada.

O espectro de PL do OE de laranja amarga está ilustrado na Figura 29.

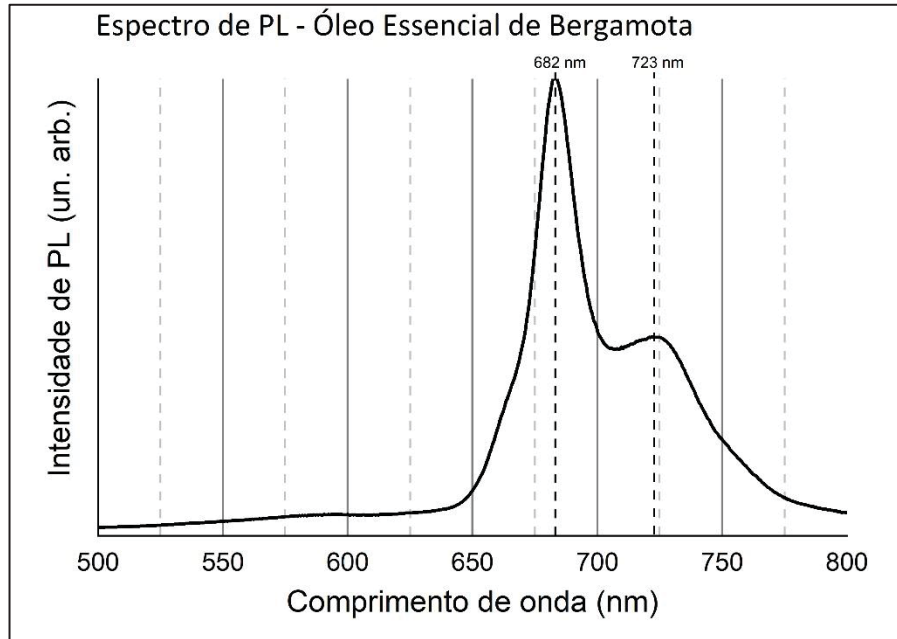
Figura 29 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga (*Citrus aurantium*).
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O espectro de PL do OE de laranja amarga revela três emissões de maior intensidade. Uma delas, menos intensa, se apresenta na forma de uma emissão muito larga que se inicia em 500 nm e em cerca de 650 nm se sobrepõe ao início de uma segunda emissão. Esta segunda emissão possui a maior intensidade de todo o espectro e se apresenta na forma de um pico em 678 nm. A terceira emissão de alta intensidade, possui uma intensidade intermediária entre as duas citadas anteriormente. Esta última emissão tem seu início sobreposto ao final da segunda emissão. Seu máximo de emissão se encontra em ~724 nm.

Por fim, o espectro de PL do OE de bergamota pode ser visto no gráfico da Figura 30.

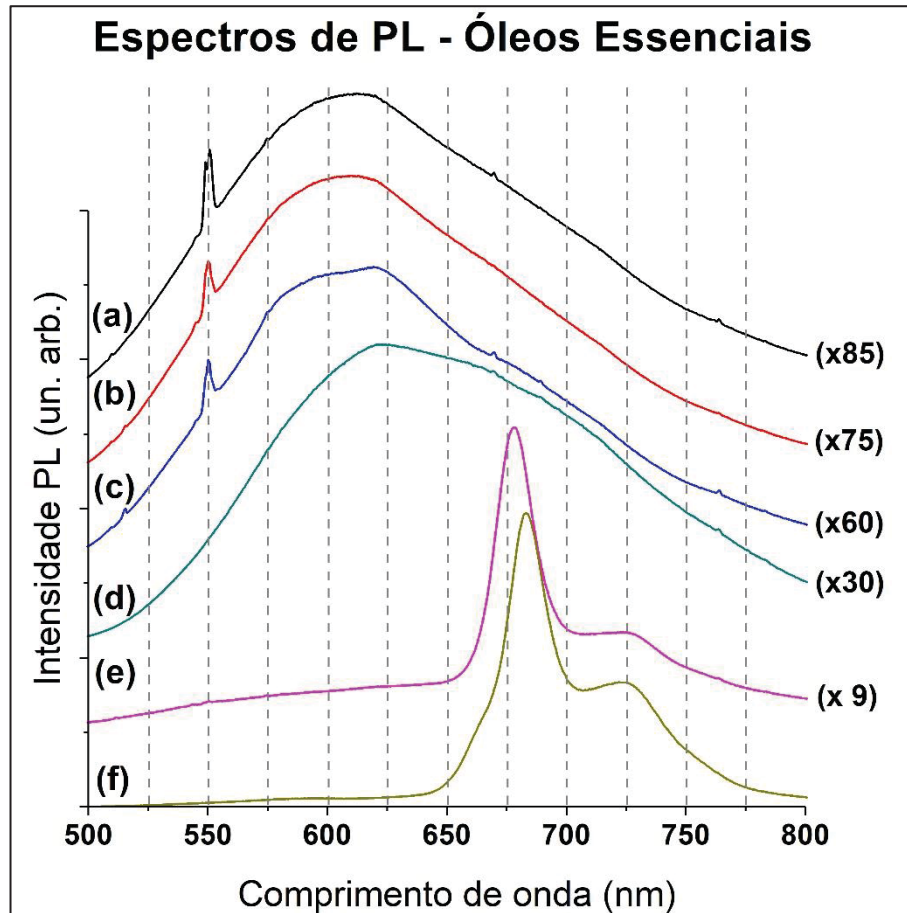
Figura 30 - Espectro de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota (*Citrus bergamia*).
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



No espectro de PL do OE de bergamota observa-se também três emissões principais e bastante similares às do OE de laranja amarga. A primeira, de menor intensidade e bem larga, se estende desde ~500 nm e se sobrepõe ao início da segunda emissão, esta com a maior intensidade e com máximo em 682 nm. A terceira emissão, de intensidade intermediária, em parte se sobrepõe ao final da segunda emissão. Seu máximo de emissão está localizado em 723 nm. A citada e visível similaridade dos espectros de PL dos OEs de laranja amarga e bergamota, em forma e número de picos, está coerente com o fato de que estes dois OEs cítricos têm composição semelhante.

Além das diferenças no formato do espectro de PL, os OEs analisados também apresentam diferentes intensidades de emissão, as quais podem ser comparadas quando as medidas são feitas sob os mesmos parâmetros experimentais. Tal comparação pode ser vista na Figura 31.

Figura 31 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência dos óleos essenciais de menta japonesa (a), eucalipto citriodora (b), citronela (c), botão de cravo (d), laranja amarga (e) e bergamota (f). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A comparação entre os espectros de PL das seis amostras de OEs mostra uma diferença considerável entre as intensidades dos seus máximos e emissão. O OE de bergamota se apresenta como mais intenso, seguido pelo OE de laranja amarga, botão de cravo, citronela, eucalipto citriodora e menta japonesa. Com relação aos formatos dos espectros de PL, fica evidente a semelhança entre os OE de menta japonesa, eucalipto citriodora e citronela. Embora exista uma diferença na intensidade relativa destas amostras, seus picos estreitos na região de 550 nm e sua emissão larga na região de 610-620 nm são semelhantes. Esta semelhança, em um primeiro momento, é compreensível quando comparamos as composições químicas dos OE de citronela e eucalipto citriodora, afinal, estes óleos possuem diversos componentes em comum. No entanto, a semelhança com o OE de menta japonesa surpreende, uma vez que este óleo não possui muitos componentes em comum com os anteriores.

O OE de botão de cravo, por sua vez, não apresenta emissões estreitas. Seu espectro de PL se apresenta na forma de uma grande emissão larga com máximo em

621 nm, o único dentre as amostras analisadas com este formato de espectro. Além disso, seu máximo de emissão é mais intenso que todos os outros, exceto para a bergamota e a laranja amarga. Este formato de espectro obtido é muito semelhante aos espectros de PL que Ochocka *et al.* (1992) obtiveram ao analisar soluções de eugenol com λ_{Exc} na região do UV. Uma vez que o principal componente do OE de botão de cravo é justamente o eugenol, este estudo prévio respalda o espectro obtido neste trabalho.

Os OEs cítricos (laranja amarga e bergamota), por sua vez, possuem seus formatos de espectro de PL semelhantes entre si, porém, muito diferente dos demais, não apresentando emissões intensas na região de 550 nm ou 610-620 nm. Suas principais emissões ocorrem em comprimentos de onda maiores, na região do vermelho, próximas a 680 e 720 nm. Outro diferencial é a intensidade global da PL, que é de uma a duas ordens de grandeza superior à das demais amostras. Além disso, é interessante analisar a semelhança entre os espectros de PL obtidos para os OEs de laranja amarga e bergamota com o espectro obtido por Kleinegris *et al.* (2010) quando analisou glóbulos de algas ricos em clorofila. Neste estudo em questão, os autores atribuíram os picos de emissão na região do vermelho para a clorofila. Como já foi discutido anteriormente, OEs que são extraídos por prensagem a frio, assim como nossas amostras de óleos cítricos, são comumente contaminados por pigmentos presentes no epicarpo dos seus respectivos frutos. Isto nos abre a possibilidade de considerar que tenhamos uma contribuição expressiva da luminescência de clorofila misturada a esses óleos cítricos.

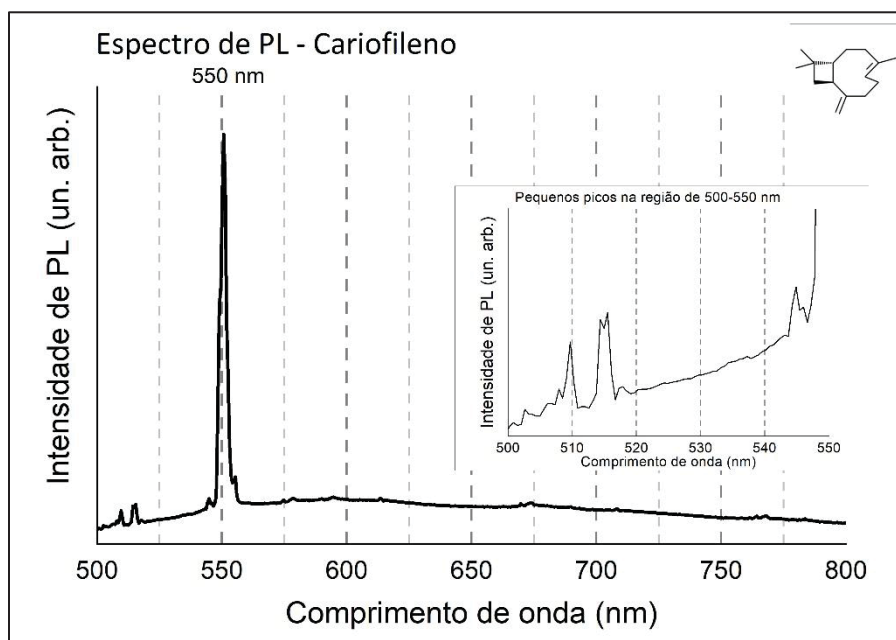
6.4 FOTOLUMINESCÊNCIA – COMPONENTES INDIVIDUAIS

O mentol, citado na literatura como um dos principais componentes do OE de menta japonesa, é encontrado no estado líquido quando em solução com outros componentes terpenos/terpenóides. No entanto, como já citado anteriormente, esse composto em um alto grau de pureza se apresenta como um sólido à temperatura ambiente. Uma vez que o espectro de PL de uma determinada substância pode se alterar drasticamente com mudanças no seu estado físico, a medição da PL deste composto em qualquer estado que não seja o líquido não se mostra interessante ou útil para nosso estudo. A única maneira de avaliar a PL deste componente isolado no estado líquido seria aquecendo a amostra e medindo sua PL simultaneamente. Contudo, não contamos com o aparato experimental para tal procedimento.

Desta forma, com exceção do mentol, todos os demais componentes de OEs obtidos tiveram seus espectros de PL medidos.

O espectro de PL do cariofileno, terpeno tipicamente encontrado no OE de botão de cravo, pode ser visto na Figura 32.

Figura 32 - Espectro de fotoluminescência do composto cariofileno (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.

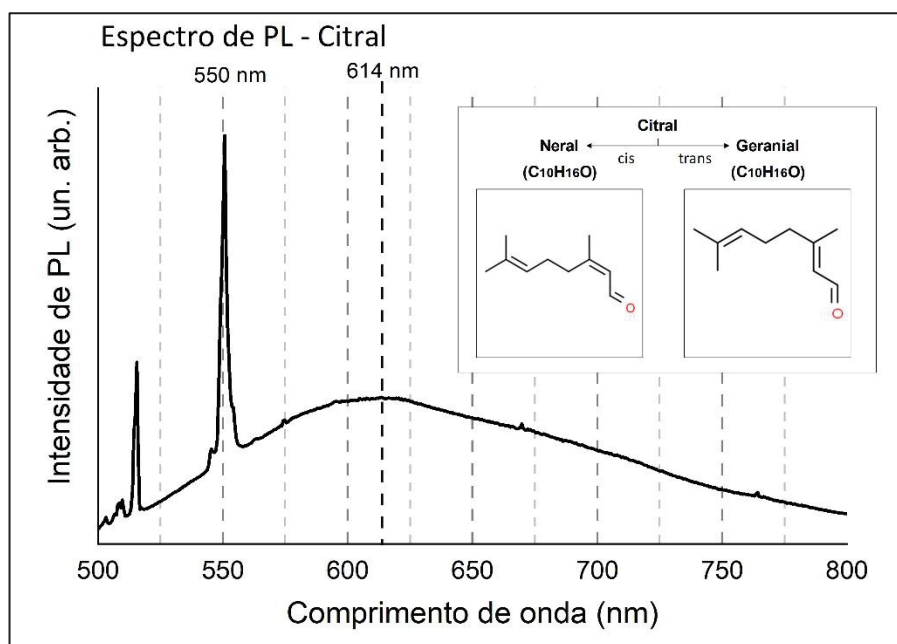


O espectro obtido para o cariofileno revela diversos picos de emissão estreitos. O mais intenso deles está localizado em 550 nm. Os demais picos estreitos, de menores intensidades, estão localizados em 510, 514, 515, 545 e 555 nm.

Diversos outros componentes apresentaram um formato do seu espectro de PL muito semelhante ao que foi observado para o cariofileno, ou seja, com um pico estreito de maior intensidade em 550 nm, e picos estreitos de menores intensidades presentes na faixa de 500-555 nm. Dentre os componentes que apresentaram espectro de PL neste formato, além do cariofileno já citado, temos os compostos: citronelal, citronelol, geraniol, limoneno, linalol, acetato de linalina, terpineno mentona. Os espectros de PL destes componentes podem ser vistos no Anexo 1 deste trabalho e um resumo das suas principais características está presente no Quadro 2.

O espectro de PL do citral, terpenóide tipicamente encontrado no OE de citronela, pode ser visto na Figura 33.

Figura 33 - Espectro de fotoluminescência do composto citral (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



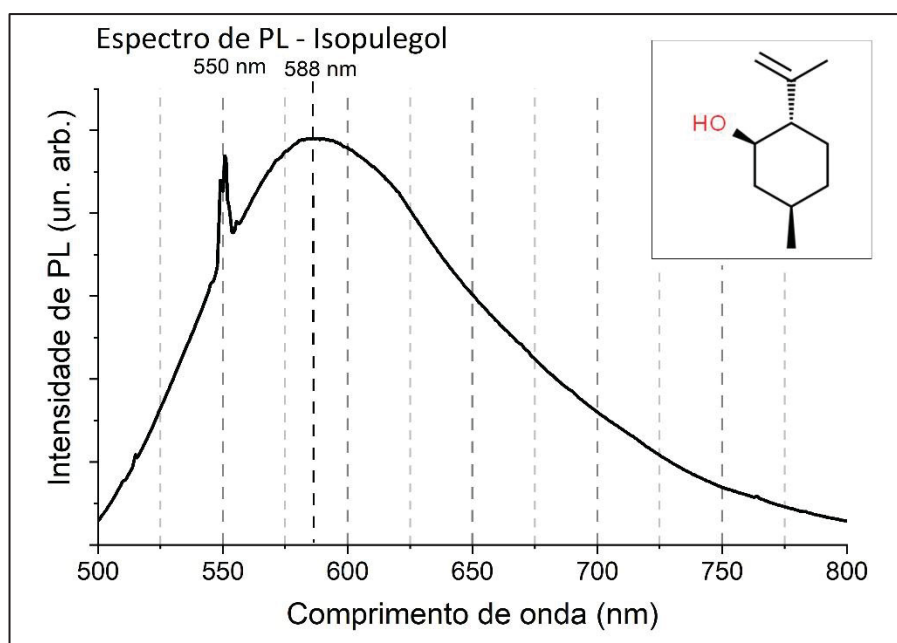
O espectro obtido para o citral revela, além de diversos picos de emissão estreitos, uma emissão larga em comprimentos de onda maiores. Dentre os picos estreitos, o mais intenso deles está localizado em ~550 nm. Os demais picos estreitos, de menores intensidades, estão localizados em 503, 507, 508, 510, 515 e 545 nm. Já a sua emissão larga, assimétrica e de intensidade intermediária, possui máximo de intensidade em ~614 nm. Uma vez que este composto analisado encontra-se em um elevado grau de pureza em fase líquida, a existência de uma emissão não-estruturada, como aquela presente em 614 nm, indica a possibilidade de interações fortes entre as moléculas de citral no estado excitado com as moléculas idênticas no

estado fundamental, caracterizando a formação de excímeros, os quais tipicamente apresentam emissões largas em comprimentos de onda maiores.

O componente isomentona apresentou um espectro de PL com formato muito semelhante ao do citral, ou seja, com diversos picos de emissão estreitos, sendo o mais intenso em ~ 550 nm, e uma emissão larga em comprimentos de onda maiores. O espectro de PL da isomentona pode ser visualizado no Anexo 1 deste trabalho e um resumo das suas principais características está presente no Quadro 2.

O espectro de PL do isopulegol, terpenóide tipicamente encontrado no OE de citronela e eucalipto citriodora, pode ser visto na Figura 34.

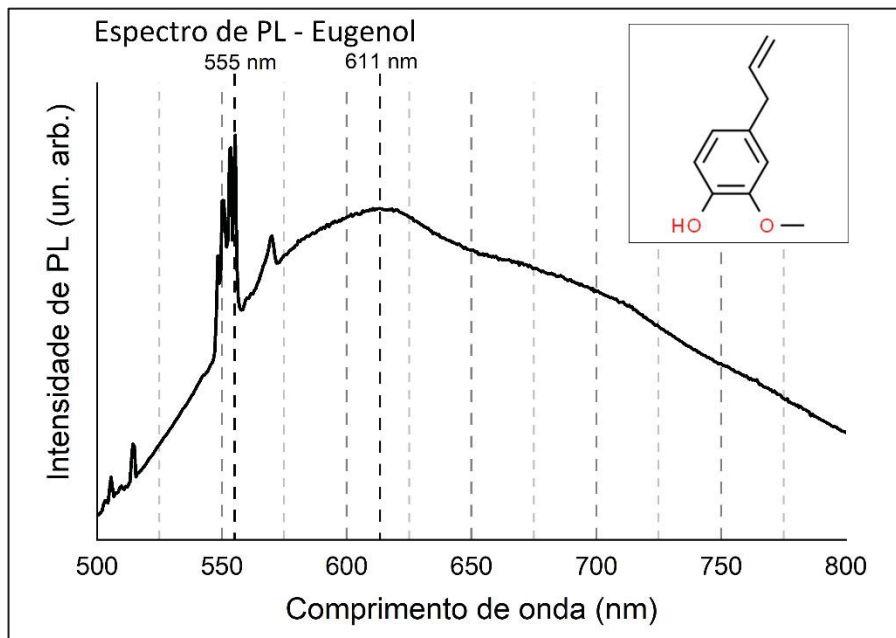
Figura 34 - Espectro de fotoluminescência do composto isopulegol (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



O espectro obtido para o isopulegol revela dois picos de emissão estreitos e uma emissão larga em comprimentos de onda maiores. Ambos os picos estreitos presentes possuem alta intensidade de emissão. Eles se localizam em 550 e 551 nm. A emissão larga, por sua vez, possui máximo de intensidade em 588 nm e se apresenta como a mais intensa dentre as emissões para este componente. Semelhante ao que foi descrito anteriormente, a existência da emissão não-estruturada em 588 nm indica a possibilidade de formação de excímeros entre as moléculas deste componente, porém, diferente do que foi observado para os compostos anteriores (citral e isomentona), a emissão não-estruturada do isopulegol se sobressai às demais em termos de intensidade.

O espectro de PL do eugenol, composto aromático tipicamente encontrado no OE de botão de cravo, pode ser visto na Figura 35.

Figura 35 - Espectro de fotoluminescência do composto eugenol (grau P.A.). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O espectro obtido para o eugenol revela diversos picos de emissão estreitos e uma emissão larga em comprimentos de onda maiores. Dentre os picos estreitos, o mais intenso deles está localizado em 555 nm. No entanto, outros quatro picos de intensidades comparáveis se encontram próximos, em 548, 550, 553 e 570 nm. Os demais picos estreitos, de menores intensidades, estão localizados em 503, 506, 510 e 515 nm. Já a sua emissão larga, assimétrica e de alta intensidade, possui máximo de intensidade em 611 nm. Semelhante ao que foi descrito anteriormente, a existência da emissão não-estruturada em 611 nm indica a possibilidade de formação de excímeros entre as moléculas deste componente.

O espectro de PL do acetato de eugenila, composto aromático também encontrado no OE de botão de cravo, apresentou um espectro de PL semelhante aquele observado para o eugenol, ou seja, com emissões estreitas e intensas na faixa de 500-555 nm e com uma emissão larga de menor intensidade em comprimentos de onda maiores. O espectro de PL do acetato de eugenila pode ser visualizado no Anexo 1 deste trabalho e um resumo das suas principais características está presente no Quadro 2 abaixo.

Quadro 2 - Comparação entre picos de emissão de fotoluminescência ($\lambda_{E,xc} = 474 \text{ nm}$) entre os diferentes componentes de óleos essenciais.

Componente	Posição de pico (nm)																				Emissões largas (nm)	Pico de maior Intensidade (nm)	Intensidade relativa do maior pico*					
	(picos estreitos)																											
	501	503	506	507	508	510	514	515	516	517	518	530	543	545	546	548	550	551	553	555				556	558	564	570	
Cariofileno						X	X	X					X			X					X					-	550	0,4
Citronelal					X	X	X	X					X													-	551	0,3
Citronelol	X		X		X		X	X					X										X			-	551	0,3
Geraniol				X	X	X	X	X					X										X			-	551	0,3
Limoneno						X	X	X					X				X									-	550	0,3
Linalol						X	X	X					X				X									-	550	0,3
Ac. Linalina			X			X	X	X					X					X								-	551	0,4
Terpineno			X		X	X	X	X				X		X			X									-	550	0,3
Mentona				X		X	X	X				X		X			X					X				-	551	0,3
Isomentona				X		X	X	X				X		X			X									614	551	0,3
Citral		X		X	X	X	X	X						X												614	551	1,5
Isopulegol																										588	588	1
Eugenol		X	X			X	X	X								X	X									611	555	0,7
Ac Eugenila			X			X	X	X					X			X	X									614	550	0,4

* Parâmetro de comparação: pico de emissão do isopulegol em 588 nm.

Conforme pôde ser observado, os espectros de PL dos compostos analisados acima possuem algumas semelhanças. A principal delas consiste nos picos estreitos de emissão na região de 550-555 nm. De fato, com exceção ao isopulegol, todos os demais componentes possuem sua emissão mais intensa nesta região. A existência dos mesmos picos de emissão em terpenos, terpenóides e compostos aromáticos mostra que, apesar de representarem moléculas diferentes, suas estruturas e massas molares semelhantes com insaturações (transições π^*,π) geram picos de emissão parecidos.

Diversos outros picos estreitos de intensidades intermediárias ou bem inferiores também puderam ser observados nas moléculas analisadas. Os picos de menores intensidades podem ser observados nas regiões entre 500-510, 514-518 e 543-545 nm. Enquanto os picos de intensidades intermediárias se encontram nas regiões de 448, 553 e 570 nm, na maioria das vezes muito próximos ao pico de maior intensidade em 550-555 nm.

Também foi possível observar que alguns dos compostos apresentaram a formação de estruturas que se assemelham a excímeros. Os excímeros, conforme dito anteriormente, são emissões largas que possuem um *red-shift* em relação às típicas emissões estreitas da PL molecular, que ocorrem em componentes com alto grau de pureza que possuem moléculas no estado excitado interagindo com moléculas idênticas no estado fundamental. Os componentes isomentona, citral, eugenol e acetato de eugenila apresentaram tais emissões largas com intensidade intermediária na região de 610-615 nm. Outro componente que merece destaque é isopulegol, o qual apresentou emissão uma emissão larga em 588 nm de intensidade superior aos seus demais picos de emissão, incluindo os característicos picos de alta intensidade na região de 550-551 nm.

Com relação às intensidades de emissão relativas entre os diversos componentes, as medidas padronizadas revelaram que o pico em 551 nm do componente citral representa o mais intenso dentre as amostras avaliadas. Logo em seguida, a emissão em 588 nm do componente isopulegol se apresenta como a segunda mais intensa. A emissão estreita em 555 nm do eugenol vem logo em seguida, enquanto que os demais componentes apresentam intensidades relativas muito semelhantes.

Além disso, é importante salientar que os espectros de PL de todas as amostras presentes neste estudo foram mensurados em diferentes ocasiões, com

intervalos de tempo que chegaram a 10 meses e os mesmos se mostraram reprodutíveis.

6.5 ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de citronela, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.5.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença dos seguintes componentes na amostra de OE de citronela:

1. Citronelal;
2. Geraniol;
3. Citral;
4. Citronelol;
5. Limoneno;
6. Acetato de geranila.

sendo que as quatro maiores áreas de pico detectadas, da maior para a menor, foram as dos compostos citronelal, geraniol, citral e citronelol. Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de citronela podem ser vistos no Anexo 2 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura a respeito da composição deste OE (vide Tabela 1) também destacam a presença destes quatro compostos como componentes majoritários, estes resultados mostram-se coerentes. Os componentes limoneno e acetato de geranila também são citados na literatura, porém, como componentes minoritários. A literatura também cita a presença do composto isopulegol como componente minoritário e, mesmo que sua presença não tenha sido detectada por este ensaio, sua existência na amostra analisada não foi desconsiderada em um primeiro momento.

6.5.2 Misturas de componentes

Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de citronela foram elaboradas as seguintes misturas:

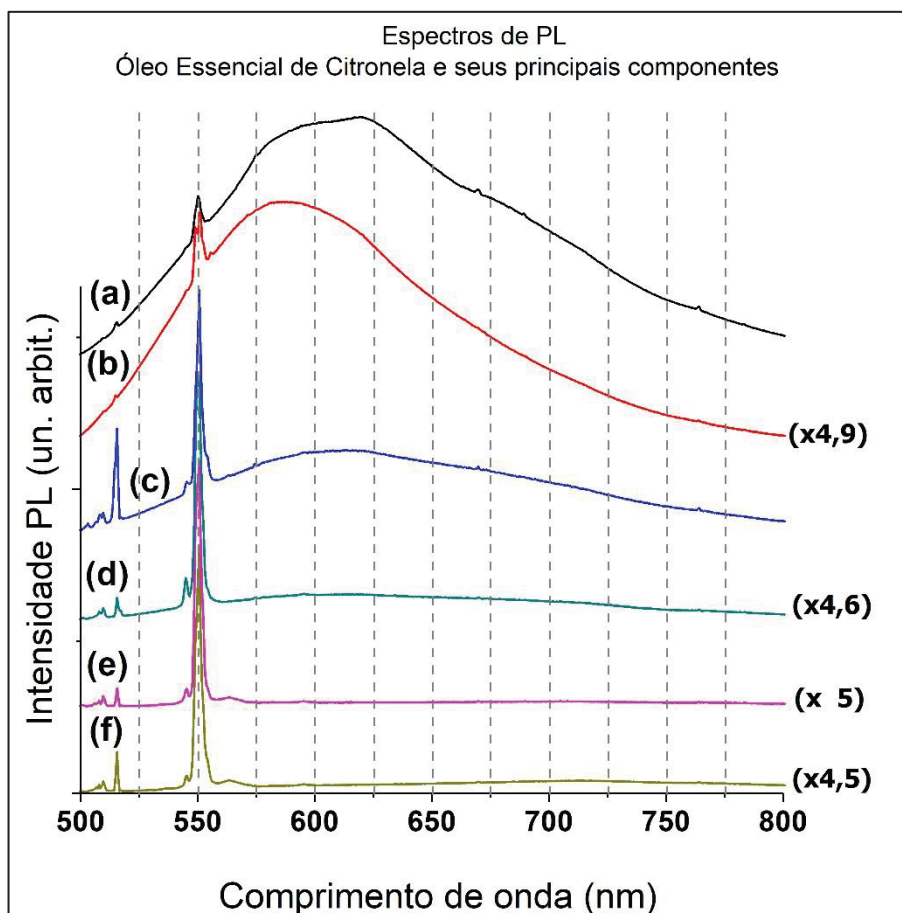
1. Citronelal (80%) + Citronelol (20%)
2. Citronelal (80%) + Geraniol (20%)
3. Citronelal (80%) + Isopulegol (20%)
4. Citronelal (50%) + Citral (50%)
5. Citral (79%) + Citronelol (21%)
6. Citral (79%) + Isopulegol (21%)
7. Citral (80%) + Geraniol (20%)
8. Geraniol (50%) + Isopulegol (50%)
9. Geraniol (50%) + Citronelol (50%)
10. Isopulegol (50%) + Citronelol (50%)
11. Citronelal (45%) + Geraniol (30%) + Citral (15%) + Citronelol (10%)
12. Citronelal (44%) + Geraniol (29%) + Citral (15%) + Citronelol (10%) + Isopulegol (2%)

6.5.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Na Figura 36 estão presentes os espectros de PL obtidos para o OE de citronela e seus componentes analisados (citronelal, citronelol, citral, geraniol e isopulegol) para fins de comparação. Observa-se que o OE de citronela apresenta, assim como seus principais componentes, uma emissão estreita e intensa em 550 nm. No entanto, a principal emissão da amostra de OE é uma larga emissão com pico de intensidade em ~620 nm. Os componentes citronelal, citronelol, e geraniol apresentam desprezíveis ou nulas emissões largas. Já o isopulegol e o citral as apresentam, em 588 e 614 nm, respectivamente. Porém, no caso do citral, sua principal emissão (mais intensa) ainda é atribuída ao seu pico em 550 nm. Concluindo, o isopulegol é o único componente que, assim como o OE, possui sua emissão mais larga como principal emissão, mas sua forma não se ajusta à do OE.

Figura 36 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela (a) e seus componentes analisados: isopulegol (b), citral (c), citronelal (d), citronelol (e) e geraniol (f).

$\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



Desta forma, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão possui diferenças consideráveis em relação aos dos principais componentes, no que diz respeito à intensidade do pico em 550 nm (cuja posição é, no entanto, comum para todos) e no que diz respeito à forma e à intensidade relativa dos picos largos.

Conforme já discutido, as emissões largas em maiores comprimentos de onda observadas nas amostras de citral e isopulegol provavelmente estão associadas à formação de excímeros entre as moléculas destes compostos. Uma vez que o espectro de PL do OE difere do espectro dos seus componentes em formato e intensidade, é muito provável que efeitos de interações intermoleculares fortes entre seus componentes estejam atuando para a formação deste espectro, o qual não se apresenta como uma simples sobreposição dos demais. Isso também é sugerido pela sua maior intensidade relativa.

6.5.4 Absorbância UV-Vis

Conforme explicado anteriormente, foram realizadas medidas complementares de Abs-UV/Vis em todas as amostras, cujos resultados são consolidados na Tabela 8, que relaciona dados da transmitância no comprimento de onda 550 nm (escolhido como valor de referência, correspondendo à posição dos picos estreitos de emissão de PL) e o limiar de absorção total (que é o comprimento de onda abaixo do qual a absorção é máxima).

Tabela 8 - Comparação entre os dados de absorbância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de citronela, seus principais componentes e misturas entre seus componentes analisados.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Citronela	385	-	93%
Citronelal	341	-	100%
Citronelol	274	-	100%
Geraniol	308	-	94%
Citral	400	-	95%
Isopulegol	333	-	95%
Citronelal (80%) + Citronelol (20%)	339	-	97%
Citronelal (80%) + Geraniol (20%)	339	-	97%
Citronelal (80%) + Isopulegol (20%)	340	-	97%
Citronelal (50%) + Citral (50%)	391	-	98%
Citral (79%) + Citronelol (21%)	396	-	99%
Citral (79%) + Isopulegol (21%)	419	-	78%
Citral (80%) + Geraniol (20%)	396	-	99%
Geraniol (50%) + Isopulegol (50%)	338	-	100%
Geraniol (50%) + Citronelol (50%)	364	-	100%
Isopulegol (50%) + Citronelol (50%)	310	-	100%
Citronelal (45%) + Geraniol (30%) + Citral (15%) + Citronelol (10%)	384	-	100%
Citronelal (44%) + Geraniol (29%) + Citral (15%) + Citronelol (10%) + Isopulegol (2%)	384	-	100%

É possível observar que o limiar de absorção total do OE de citronela se encontra em um valor intermediário abaixo do citral (de maior limiar) e acima dos demais. Uma vez que a região de absorção entre 380-420 nm corresponde ao violeta,

o aspecto verde-amarelado do OE de citronela e do citral são coerentes com seus respectivos espectros de absorção, enquanto que os demais, que absorvem na região do UV, são incolores e transparentes.

Além disso, também é possível constatar a pequena absorção (alta transmitância) em 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL.

Para as misturas constituídas de 80% de citronelal com os outros 20% sendo constituídos pelos diferentes tipos de álcoois (citronelol, geraniol, isopulegol) não há muita diferença, pois o limiar de absorção ficou muito próximo do medido para o citronelal (componente majoritário).

A mistura citronelal + citral (50% cada) apresentou um limiar de absorção total intermediário aos dos componentes isolados.

Já a mistura citral (79%) e citronelol (21%) apresentou um leve efeito hipsocrômico em relação ao citral.

A mistura citral (79%) + isopulegol (21%) apresentou um claro efeito batocrômico, tendo seu limiar de absorção total deslocado para 419 nm, um valor superior aos encontrados para cada componente separado (400 nm para o citral e 333 nm para o isopulegol). Foi possível observar também que, enquanto a amostra de citral apresentava uma leve coloração amarelada e a amostra de isopulegol se apresentava transparente e incolor, a mistura preparada entre estes dois compostos assumiu uma coloração marrom-castanho.

A mistura citral (80%) + geraniol (20%) apresentou um leve efeito hipsocrômico em relação ao citral, similar à mistura de citral (79%) + citronelol (19%).

É interessante ressaltar que o componente citral foi misturado em proporções praticamente idênticas com os três tipos de álcoois diferentes: citronelol, isopulegol e geraniol. No entanto, o efeito batocrômico só foi observado com o componente isopulegol.

A mistura geraniol (50%) + isopulegol (50%) apresentou um leve efeito batocrômico, tendo seu limiar de absorção total deslocado para 338 nm, um valor superior aos encontrados para cada componente separado (308 nm para o geraniol e 333 nm para o isopulegol).

A mistura geraniol (50%) + citronelol (50%), por sua vez, apresentou um efeito batocrômico mais forte, tendo seu limiar de absorção total deslocado para 364 nm, um

valor superior ao dos componentes (308 nm para o geraniol e 274 nm para o citronelol).

Já a mistura citronelol + isopulegol (50% cada) apresentou um limiar de absorção total intermediário ao dos componentes.

Também é interessante observar que para estas três misturas de álcoois (geraniol, citronelol e isopulegol) foram observados efeitos de interações fortes no estado fundamental (efeito batocrômico) entre o geraniol e os demais componentes, enquanto que a interação entre o citronelol e isopulegol não apresentou o mesmo comportamento.

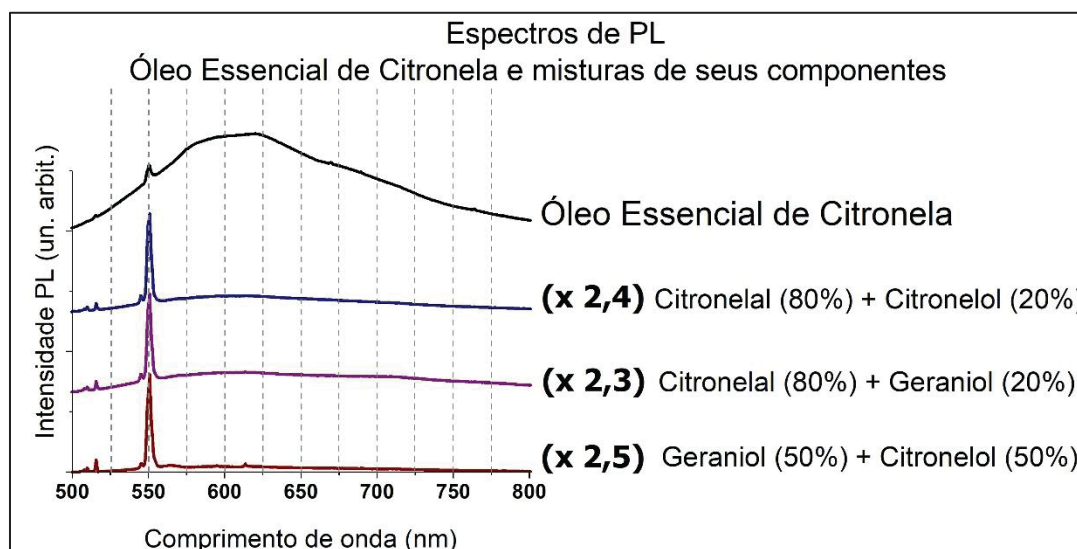
Além disso, temos a mistura citronelal (45%) + geraniol (30%) + citral (15%) + citronelol (10%), e a mistura citronelal (44%) + geraniol (29%) + citral (15%) + citronelol (10%) + isopulegol (2%). Vale destacar que estas duas misturas foram elaboradas com as mesmas quantidades de citronelal, geraniol, citral e citronelol, diferindo apenas pela adição de pequena fração de isopulegol na segunda mistura. Os espectros de absorção destas duas misturas foram os que mais se aproximaram ao do OE de citronela, com limiar de absorção em 384 nm, enquanto que o do OE foi de 385 nm. Este resultado é coerente, tendo em vista que estas duas misturas foram elaboradas visando obter uma proporção destes componentes muito similar ao que é esperado para a amostra de OE de citronela. Entretanto, a pequena fração de isopulegol não gerou alteração apreciável no espectro de absorção da mistura.

Com relação às absorções em 550 nm, é possível constatar que quase todas as amostras têm baixa absorção nesta faixa (transmitância próxima a 100%), exceto na mistura de citral (79%) + isopulegol (21%), cujo forte efeito batocrômico é acompanhado de considerável aumento da absorção nesta região. Uma vez que todos os seus possuem um pico de emissão nesta mesma faixa, o efeito de transferência ressonante de energia pode estar ocorrendo.

6.5.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 37 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de citronela e as misturas de: citronelal (80%) + citronelol (20%), citronelal (80%) + geraniol (20%) e geraniol (50%) + citronelol (50%).

Figura 37 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias entre seus componentes citronelal, citronelol e geraniol. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.

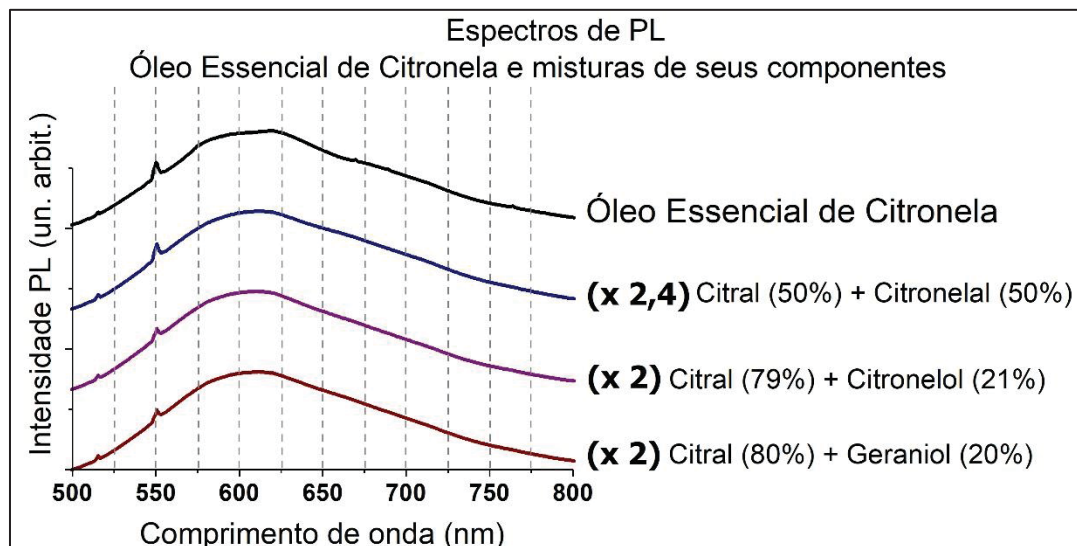


Ambas as misturas, citronelal (80%) + citronelol (20%) e citronelal (80%) + geraniol (20%), não revelaram indícios de interações intermoleculares fortes no estado fundamental, conforme visto pelos resultados de Abs-UV/Vis. Seus espectros de PL também indicam a ausência de interações fortes no estado excitado para estas misturas (dada à semelhança com os espectros de PL dos componentes isolados, vide Figura 36). Além disso, seus espectros de PL diferem muito do espectro do OE de citronela em formato e intensidade.

A mistura geraniol (50%) + citronelol (50%), apesar de ter apresentado um forte efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis, indicando interações fortes no estado fundamental, também não revelou grandes alterações no seu espectro de PL, o qual se assemelha muito ao espectro dos componentes isolados (vide Figura 36). Portanto, não devem haver interações fortes no estado excitado para esta mistura.

A Figura 38 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de citronela e misturas binárias contendo citral e os componentes citronelal, citronelol e geraniol.

Figura 38 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias de seus componentes contendo citral com citronelal, citronelol e geraniol.
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.

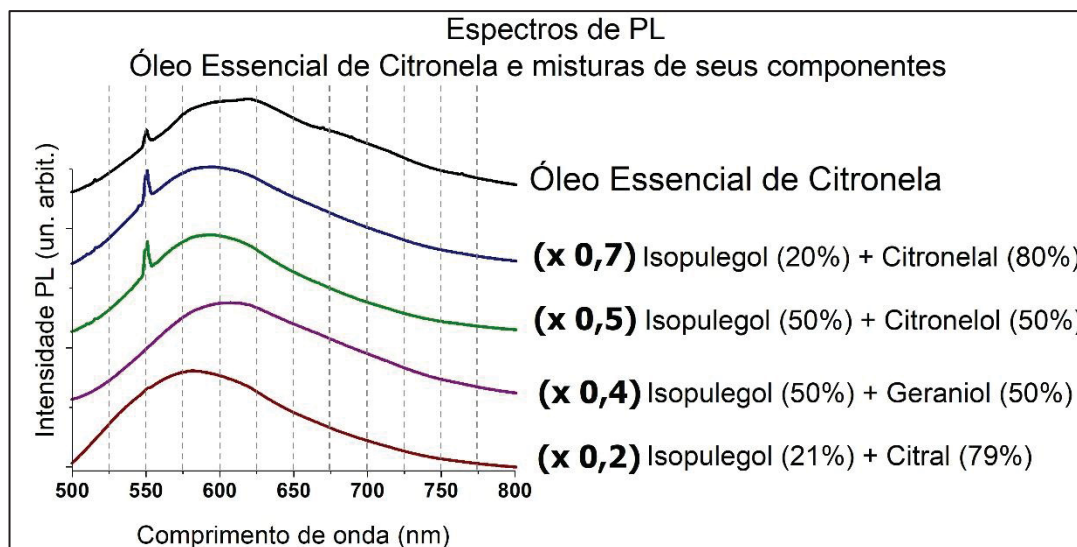


Para a mistura citral (50%) + citronelal (50%), vemos que o formato do seu espectro de PL é muito semelhante ao do OE de citronela. Esta mistura, não apresenta indícios de interações fortes no seu estado fundamental de acordo com o seu espectro de Abs-UV/Vis, mas demonstra sinais de interações fortes no estado excitado de acordo com sua PL. Conforme foi mostrado anteriormente (Figura 36), o citronelal não apresentava uma emissão larga de alta intensidade, apenas a típica emissão estreita em ~550 nm. O citral, por sua vez, apresentava uma emissão larga de intensidade intermediária com máximo em 614 nm, além da sua emissão estreita de maior intensidade em ~550 nm. Já a mistura entre estes componentes, citronelal e citral, mostrou o tradicional pico de emissão estreito em 550 nm (assim como nos componentes isolados) e também uma emissão larga com um máximo de emissão em ~614 nm (assim como o excímero do citral) mais intenso que a emissão estreita. Dessa forma, é possível constatar que existem efeitos de interação forte entre o citronelal e o citral no estado excitado. Uma vez que o citral isolado apresenta excímeros, suas interações no estado excitado com o citronelal são plausíveis. Devido à semelhança das posições dos máximos de emissão do excímero do citral e da sua mistura com o citronelal, acredita-se que a interação do citronelal com o citral no estado excitado favoreça a emissão do seu excímero, aumentando sua intensidade.

Para as misturas citral (79%) + citronelol (21%) e citral (80%) + geraniol (20%), o formato geral dos seus espectros de PL se assemelham muito ao espectro do OE (exceto pela sua intensidade). Os espectros de Abs-UV/Vis haviam apresentado apenas um leve efeito hipsocrômico em relação ao citral. No entanto, o espectro de PL indica a presença de interações fortes estes componentes no estado excitado devido à diferença do espectro da mistura com relação aos compostos isolados (vide Figura 36). Assim como na mistura citral (50%) + citronelal (50%), há a típica emissão estreita em ~550 nm, mas a emissão mais intensa é dada pelo pico largo com máximo em ~614 nm, na mesma posição do máximo do excímero do citral. Tais constatações reforçam a hipótese proposta anteriormente de que a interação com outros componentes no estado excitado favorece a emissão do excímero do citral.

A Figura 39 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de citronela e misturas binárias contendo isopulegol e os componentes citronelal, citronelol, geraniol e citral.

Figura 39 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas binárias de seus componentes contendo isopulegol com citronelal, citronelol, geraniol e citral. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A mistura isopulegol (20%) + citronelal (80%), assim como as demais amostras que se tratavam de misturas entre citronelal e diferentes tipos de álcoois, esta amostra não demonstrou sinais de interações intermoleculares fortes no seu estado fundamental (espectro de Abs-UV/Vis). No entanto, o espectro de PL revelou sinais de interações fortes no estado excitado, o que pode ser observado pelas diferenças entre o espectro de PL desta mistura e dos seus componentes isolados

(vide Figura 36). Conforme foi mostrado anteriormente, o citronelal não apresenta uma emissão larga de alta intensidade, apenas a típica emissão estreita em ~550 nm. O isopulegol, por sua vez, apresentava uma emissão larga de maior intensidade com máximo em 588 nm, cerca de 5 vezes menor que a emissão do OE de citronela. Já a mistura entre estes componentes, citronelal e isopulegol, apesar de mostrar o tradicional pico de emissão estreito em 550 nm, mostrou também uma emissão larga, com intensidade superior à do maior pico de emissão do óleo de citronela, e com um máximo de emissão localizado em 595 nm. Apesar das diferenças citadas, o espectro de PL possui certa semelhança com o do OE, justamente pela hierarquia de intensidades relativas entre a emissão larga e a intensidade do pico estreito em 550 nm. Com respeito aos efeitos de interação forte entre o citronelal e o isopulegol no estado excitado, note-se que o isopulegol isolado apresentava a formação de excímeros entre suas moléculas. Sendo assim, suas interações no estado excitado com o citronelal podem estar alterando esta emissão.

A mistura isopulegol (50%) + citronelol (50%), embora apresente pequenas alterações no seu espectro de Abs-UV/Vis, trouxe mudanças significativas no seu espectro de PL em relação aos espectros dos componentes isolados (vide Figura 36). A típica emissão estreita em ~550 nm está presente, acompanhada de uma emissão larga mais intensa com máximo em ~593 nm, cerca de 2 vezes mais intensa que a emissão do OE de citronela. Uma vez que o excímero do componente isopulegol possui um máximo em 588 nm, é possível que as interações no estado excitado desta mistura tenham causado alterações nesta emissão.

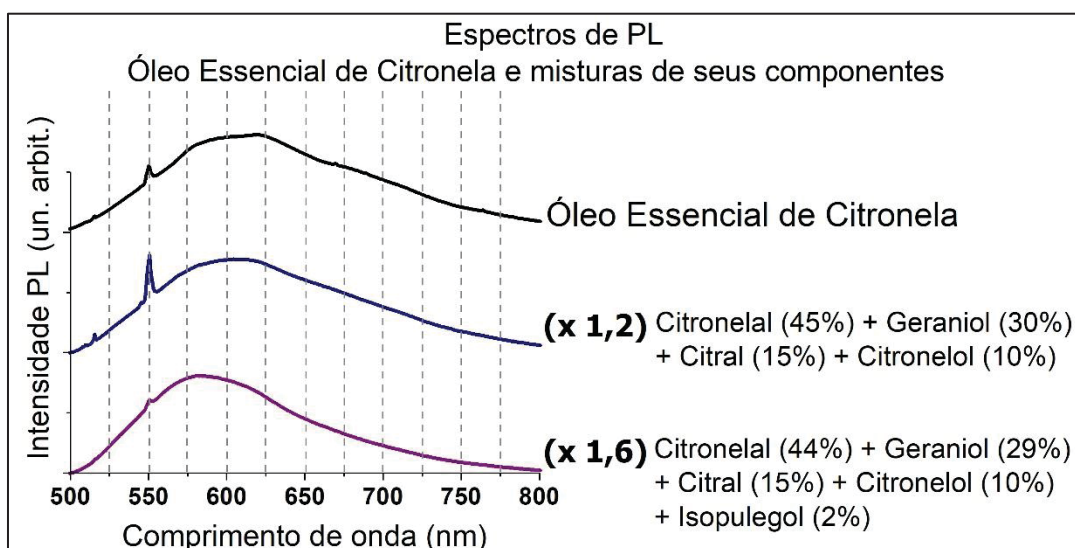
A mistura isopulegol (50%) + geraniol (50%) apresentou um leve efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis. No entanto, seu espectro de PL indica fortes interações entre estes componentes no estado excitado com uma emissão larga de máximo em ~587 nm, muito próximo ao excímero do isopulegol (máximo em ~588 nm). Desta forma, é possível que a interação no estado excitado entre o isopulegol e o geraniol favoreça a emissão do seu excímero. No mais, o espectro de PL da mistura difere muito do espectro do OE de citronela.

A mistura isopulegol (21%) + citral (79%) havia apresentado um grande efeito batocrômico no espectro de Abs-UV/Vis, até superior ao observado para o OE de citronela, indicando a presença de interações fortes para estes componentes no estado fundamental. Quanto ao espectro de PL, também existem mudanças com relação aos componentes isolados (vide Figura 36). Primeiramente, a mistura não

apresenta a típica emissão estreita em 550 nm que os componentes isolados apresentam. Isto pode ser explicado pela já observada alta absorbância desta amostra na região de 550 nm decorrente do forte efeito batocrômico gerado. Desta forma, observa-se o fenômeno de transferência ressonante de energia neste sistema. Além disso, vemos a aparição de uma emissão larga de alta intensidade, mais intensa que a própria emissão larga do OE de citronela, com máximo de emissão em ~607 nm. Vale ressaltar que tanto o citral quanto o isopulegol apresentavam a formação de excímeros. Desta forma, a mistura entre estes dois componentes acarretou fortes efeitos de interação tanto no estado fundamental (efeito batocrômico) quanto no estado excitado (mudança no formato do espectro de emissão). Além disso, a alta intensidade da emissão em ~607 nm da mistura, muito provavelmente, está associada ao fenômeno de FRET, também responsável pela extinção do pico estreito em 550 nm dos componentes individuais. No entanto, apesar dos efeitos interessantes, o espectro de PL desta mistura ainda difere do espectro do OE de citronela.

A Figura 40 mostra comparação entre os espectros de PL do OE de citronela e as seguintes misturas: citronelal (45%) + geraniol (30%) + citral (15%) + citronelol (10%) e citronelal (44%) + geraniol (29%) + citral (15%) + citronelol (10%) + isopulegol (2%).

Figura 40 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de citronela e misturas de citronelal (45%) + geraniol (30%) + citral (15%) + citronelol (10%) e citronelal (44%) + geraniol (29%) + citral (15%) + citronelol (10%) + isopulegol (2%). $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



Como mostrado anteriormente, o espectro de Abs-UV/Vis da mistura citronelal (45%) + geraniol (30%) + citral (15%) + citronelol (10%) apresentou um efeito batocrômico muito semelhante ao do próprio OE de citronela. Seu espectro de PL também apresentou algumas semelhanças com o espectro de PL do OE. A principal comparação diz respeito às intensidades de emissão, que são muito próximas. Além das intensidades, os formatos dos seus espectros são parecidos. Nesta mistura, a típica emissão estreita em 550 nm mostra-se presente junto com uma emissão larga e intensa que possui máximo em ~613 nm. No entanto, diferente do espectro do OE de citronela, a emissão mais intensa desta amostra ainda é a emissão em 550 nm. Assim como as amostras anteriores que continham citral, esta mistura apresenta um máximo de intensidade da sua emissão larga em uma posição muito semelhante à do excímero do citral (~614 nm). Uma vez que as demais amostras contendo citral e os demais componentes apresentaram fortes interações no seu estado excitado, é plausível que estas mesmas interações estejam ocorrendo nesta amostra em um grau diferente.

Conforme dito previamente, a mistura citronelal (44%) + geraniol (29%) + citral (15%) + citronelol (10%) + isopulegol (2%) é muito semelhante àquela analisada anteriormente, diferindo apenas pela adição de pequena fração de isopulegol. A Abs-UV/Vis desta amostra revelou um espectro semelhante ao da amostra anterior, com um efeito batocrômico semelhante ao observado no próprio OE de citronela. Portanto, é possível observar que a adição de isopulegol não acarretou interações fortes no estado fundamental. No entanto, quando avaliamos o espectro de PL, vemos que presença do isopulegol causa uma grande alteração. A emissão larga da mistura se torna mais intensa que a emissão em 550 nm e seu máximo de intensidade se desloca para 581 nm. Conforme visto, este valor de máximo de intensidade está mais próximo ao excímero do isopulegol (~588 nm). Com isso, percebe-se que a presença de pequenas quantidades de isopulegol é suficiente para gerar grandes alterações no estado excitado deste sistema, causando um desvio do formato do espectro de PL observado para o OE de citronela.

6.5.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de citronela duas características ópticas que se distinguem das dos seus principais componentes. A primeira diz respeito a um efeito batocrômico forte no espectro de Abs-UV/Vis e a segunda diz respeito a uma emissão larga e assimétrica de alta intensidade com seu máximo em ~620 nm.

Um efeito batocrômico foi observado primeiramente, em menor grau, na mistura entre citronelol (50%) e geraniol (50%). Em seguida, em um grau muito semelhante ao observado no OE de citronela, este efeito também foi observado na mistura entre citronelal (45%), geraniol (30%), citral (15%) e citronelol (10%), seus quatro principais componentes. Desta forma, acredita-se que este efeito batocrômico esteja associado, principalmente, com interações fortes no estado fundamental entre os componentes geraniol e citronelol e que suas proporções relativas e outros componentes presentes no sistema podem alterar o grau deste efeito.

Com relação ao espectro de PL, foram obtidos espectros muito semelhantes em formato, porém em intensidades inferiores, com as misturas envolvendo citral e os componentes citronelal, citronelol e geraniol. Nestas misturas, ficou evidente (através das medidas de Abs-UV/Vis) que não haviam interações fortes entre estes componentes no estado fundamental. No entanto, no estado excitado, as interações do citral com os demais componentes acarretavam em um aumento da intensidade de emissão do seu excímero, o qual possui um máximo de intensidade em ~614 nm. Além disso, a mistura entre citronelal (45%), geraniol (30%), citral (15%) e citronelol (10%) também apresentou, com algumas ressalvas, semelhanças no seu formato de PL com o OE de citronela, além de uma intensidade muito similar.

Portanto, acredita-se que através de uma mistura com as proporções corretas entre os quatro componentes principais do OE de citronela (citronelal, citronelol, citral e geraniol) seja possível obter um espectro de PL muito similar ao do próprio OE, com os mesmos mecanismos de luminescência.

Propõe-se aqui que os efeitos de interações intermoleculares no estado fundamental do OE de citronela estejam associados, principalmente, ao par citronelol/geraniol, enquanto as interações do estado excitado estejam relacionadas com o excímero do citral e sua relação com os demais componentes.

O máximo de emissão em ~620 nm na PL do OE de citronela, bem como sua assimetria mais acentuada, devem estar associados aos demais componentes

minoritários presentes no óleo, uma vez que estes efeitos não foram observados em nenhuma das misturas elaboradas com os componentes principais.

Vale ressaltar também os efeitos muito fortes de interações no estado excitado entre os componentes principais (citronelal, citronelol, citral e geraniol) e o isopulegol. No caso do citral, as interações também foram observadas no estado fundamental, criando um efeito batocrômico tão forte que levou à ocorrência do fenômeno de FRET, e o espectro de PL da mistura entre citral (79%) e isopulegol (21%) não possui a típica emissão estreita em 550 nm e se apresenta na forma de uma única emissão larga de alta intensidade (cerca de 5 vezes mais intensa que o OE de citronela) com máximo em ~606 nm. De maneira geral, a presença do isopulegol, mesmo em quantidades muito pequenas (~2%), causou alterações significantes no espectro de PL das suas misturas, desviando os picos de intensidade das suas emissões mais largas para valores mais próximos ao do seu excímero, em ~588 nm. Portanto, acredita-se que a amostra analisada de OE de citronela não apresenta, ou apresenta quantidades muito pequenas, de isopulegol em sua composição.

6.6 ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO CITRIODORA

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de eucalipto citriodora, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.6.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença dos seguintes componentes na amostra de OE de eucalipto citriodora:

1. Citronelal;
2. Citronelol.

sendo que a maior área de pico detectada foi atribuída ao componente citronelal. Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de eucalipto citriodora podem ser vistos no Anexo 3 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura (vide Tabela 2) a respeito da composição deste OE também destacam a presença destes mesmos dois compostos como seus componentes majoritários, estes resultados mostram-se coerentes. A literatura também cita a presença de isopulegol como um dos principais componentes para este óleo e, mesmo que sua presença não tenha sido detectada por este ensaio, sua existência na amostra analisada não deve ser desconsiderada.

6.6.2 Misturas de componentes

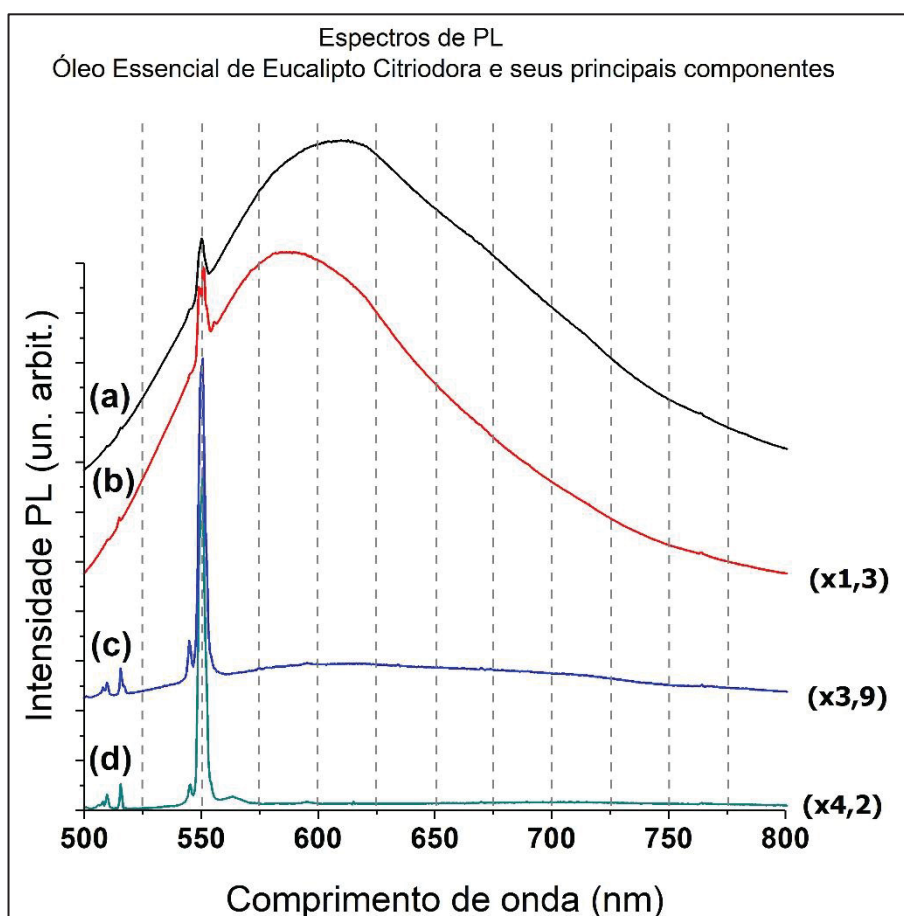
Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de eucalipto citriodora foram elaboradas as seguintes misturas:

1. Citronelal (80%) + Isopulegol (20%)
2. Isopulegol (50%) + Citronelol (50%)
3. Citronelal (90%) + Citronelol (10%)
4. Citronelal (89%) + Citronelol (9%) + Isopulegol (2%)

6.6.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Na Figura 41 estão presentes os espectros de PL obtidos para o OE de eucalipto citriodora e seus principais componentes (citronelal, citronelol e isopulegol) para fins de comparação.

Figura 41 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto (a) citriodora e seus principais componentes: isopulegol (b), citronelal (c) e citronelol (d). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O OE de eucalipto citriodora apresenta, assim como todos os seus principais componentes analisados, uma emissão estreita e intensa em 550 nm. No entanto, a principal emissão da amostra de OE diz respeito a uma larga emissão com pico de intensidade em $\sim 613 \text{ nm}$. O citronelal e o citronelol não apresentam emissões largas nos seus espectros. Já o isopulegol possui uma emissão larga em $\sim 588 \text{ nm}$. Desta forma, o isopulegol é o único componente que, assim como o OE, possui sua emissão mais larga que se caracteriza como sua emissão mais intensa.

Portanto, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão apresenta diferenças consideráveis em relação aos espectros dos seus principais componentes avaliados. Além da diferença na posição do máximo de emissão, é possível observar uma diferença no formato da emissão larga do óleo e, embora a diferença seja pequena, uma maior intensidade.

Conforme discutido anteriormente, a emissão larga em maiores comprimentos de onda observada na amostra de isopulegol, a qual possui um alto grau de pureza, provavelmente deve estar associada à formação de excímeros entre as moléculas deste composto. Uma vez que o espectro de PL do OE diverge do espectro dos seus componentes em formato e intensidade, é muito provável que efeitos de interações intermoleculares fortes entre seus componentes estejam atuando para a formação deste espectro que não se apresenta como uma simples sobreposição dos demais.

6.6.4 Absorbância UV-Vis

A Tabela 9 mostra as principais informações a respeito da absorbância/transmitância para o OE de eucalipto citriodora, seus principais componentes e misturas entre seus componentes.

Tabela 9 - Comparação entre os dados de absorbância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de eucalipto citriodora, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Eucalipto Citriodora	355	-	98%
Citronelal	341	-	100%
Citronelol	274	-	100%
Isopulegol	333	-	95%
Citronelal (80%) + Isopulegol (20%)	340	-	97%
Isopulegol (50%) + Citronelol (50%)	310	-	100%
Citronelal (90%) + Citronelol (10%)	340	-	100%
Citronelal (89%) + Citronelol (9%) + Isopulegol (2%)	342	-	100%

É possível observar, quando se compara o limiar de absorção total do OE com o dos componentes, que ele se encontra em um valor de comprimento de onda

superior, representando um efeito batocrômico. Isto indica interações intermoleculares para esta mistura mesmo no estado fundamental. Uma vez que os principais componentes do OE são terpenóides com diferentes funções orgânicas (aldeídos e álcoois), este fenômeno deve estar associado com interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo entre estas moléculas.

Uma vez que a região de alta absorção do OE e seus componentes não excedeu os 380 nm, suas absorções ópticas ficaram compreendidas na região do UV, resultando em amostras com aspectos incolores e transparentes.

Além disso, também é possível constatar que a absorção na região de 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL, é pequena (valores de transmitância próximos a 100%). Desta forma, a existência destes picos estreitos de emissão também no espectro de PL do OE de eucalipto citriodora mostra-se coerente.

Conforme constatado para as misturas de componentes referentes ao OE de citronela, as misturas entre citronelal e isopulegol, citronelal e citronelol e citronelal com citronelol não apresentaram grandes alterações no seu espectro de Abs-UV/Vis.

A mistura citronelal (90%) + citronelol (10%) e a mistura citronelal (89%) + citronelol (9%) + isopulegol (2%) apresentam as mesmas quantidades de citronelal e citronelol, diferindo pela adição de pequena fração de isopulegol à segunda mistura. Conforme pôde ser visto, o efeito desta adição não causou alterações muito significativas no espectro de Abs-UV/Vis, apenas um pequeno efeito batocrômico.

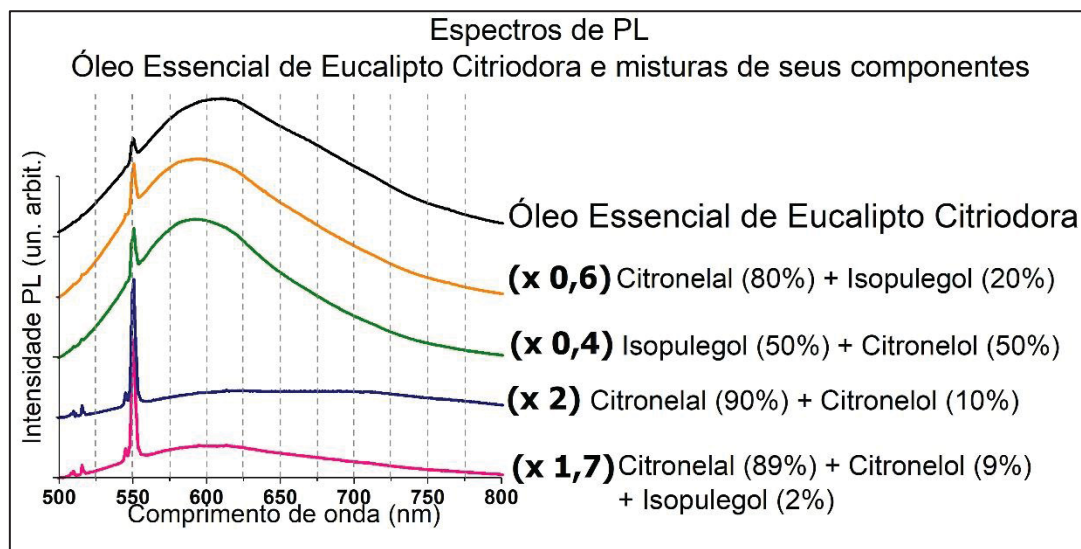
Desta forma, o efeito batocrômico observado no OE de eucalipto citriodora em relação aos seus principais componentes não foi observado em nenhuma das misturas elaboradas.

Com relação às absorções em 550 nm, nenhuma mistura apresentou aumento significativo e isso pode ser visto pelas suas transmitâncias próximas a 100% nesta região.

6.6.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 42 mostra o espectro de PL do OE de eucalipto citriodora em comparação com as misturas entre seus componentes.

Figura 42 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de eucalipto citriodora e misturas entre seus principais componentes. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



Conforme visto anteriormente, a amostra de citronelal (80%) + isopulegol (20%) não demonstra sinais de interações intermoleculares fortes no estado fundamental (espectro de Abs-UV/Vis). No entanto, seu espectro de PL mostrou sinais de interações fortes no estado excitado e isso pode ser observado pelas diferenças entre o espectro de PL desta mistura e dos seus componentes isolados (vide Figura 41). Conforme também mostrado, o citronelal não apresenta emissão larga de alta intensidade, apenas a típica emissão estreita em 550 nm. O isopulegol, por sua vez apresentava uma emissão larga de maior intensidade com máximo em $\sim 588 \text{ nm}$ e intensidade global similar à do OE de eucalipto citriodora. Já a mistura entre estes componentes, citronelal e isopulegol, mostrou o tradicional pico de emissão estreito em 550 nm (assim como nos componentes isolados) e uma emissão larga, com intensidade superior à maior pico de emissão do óleo de eucalipto citriodora, com um máximo em $\sim 595 \text{ nm}$. Apesar das diferenças em formato e intensidade, vemos que esta amostra apresenta espectro de PL parecido com o do OE de eucalipto citriodora, com duas emissões principais: a emissão estreita em 550 nm e a mais larga em comprimentos de ondas maiores. Com relação às

diferenças entre os dois espectros, podemos citar a intensidade global superior da mistura de citronelal e isopulegol e seu máximo da emissão larga em ~595 nm, enquanto que para o OE de eucalipto citriodora este máximo se encontra em torno de ~613 nm. Dessa forma, constata-se efeitos de interação forte entre o citronelal e o isopulegol no estado excitado. Uma vez que o isopulegol isolado apresentou a formação de excímeros, suas interações no estado excitado com o citronelal podem ser responsáveis pela alteração desta emissão.

A mistura isopulegol (50%) + citronelol (50%), embora tenha apresentado pequenas alterações no seu espectro de Abs-UV/Vis, mostra mudanças significativas na PL (vide Figura 41). A típica emissão estreita em ~550 nm está presente, no entanto, uma emissão larga mais intensa com máximo em ~593 nm se destaca. Tal emissão larga é cerca de 2,5 vezes mais intensa que a própria emissão do OE de eucalipto citriodora. Uma vez que o excímero do componente isopulegol possui um máximo em ~588 nm, é possível que as interações no estado excitado da mistura tenham causados alterações nesta emissão que resultaram no presente espectro. Assim como visto na mistura anterior, citronelal (80%) + isopulegol (20%), esta amostra apresenta um formato de espectro de PL ligeiramente parecido com o OE de eucalipto citriodora, apresentando duas emissões principais: uma emissão estreita em ~550 nm e uma mais larga em comprimentos de ondas maiores. Com relação às diferenças entre os dois espectros, podemos citar a intensidade global superior da mistura de citronelal e isopulegol e seu máximo da emissão larga em ~593 nm, enquanto que para o OE de eucalipto citriodora este máximo se encontra em torno de ~613 nm.

O espectro de Abs-UV/Vis da mistura citronelal (90%) + citronelol (10%) não demonstrou nenhum indício de interações intermoleculares fortes no estado fundamental e, assim como a mistura citronelal (80%) + citronelol (20%) elaborada para análise do OE de citronela (Figura 37), o espectro de PL obtido também indica a ausência de interações fortes no estado excitado devido à sua semelhança com os espectros de PL dos componentes isolados (vide Figura 41). Além disso, o espectro de PL para esta mistura se mostra muito divergente do espectro do OE de citronela em formato e intensidade.

A mistura citronelal (89%) + citronelol (19%) + isopulegol (2%) foi preparada com as mesmas quantidades de citronelal e citronelol da amostra anterior, diferindo pela adição de pequena fração de isopulegol, para avaliar a influência deste

componente no sistema. O espectro de Abs-UV/Vis já havia revelado que não ocorrem interações fortes entre estes componentes no estado fundamental. O espectro de PL obtido também revela a ausência de fortes interações no estado excitado, exceto pela formação de uma pequena emissão larga com máximo de emissão em torno de ~614 nm (vide Figura 41). Desta forma, constata-se que o sistema citronelal-citronelol não é tão sensível à presença do isopulegol, como o sistema citronelal-citronelol-citral-geraniol analisado para o OE de citronela (Figura 40). No entanto, as misturas citronelal (80%) + isopulegol (20%) e citronelol (50%) + isopulegol (50%) avaliadas anteriormente mostraram fortes interações no estado excitado. Portanto, acredita-se que em quantidades mais expressivas, o isopulegol pode alterar de forma significativa este sistema formado por citronelal e citronelol.

6.6.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de eucalipto citriodora duas características ópticas que se distinguem da dos seus principais componentes. A primeira é um efeito batocrômico no espectro de Abs-UV/Vis e a segunda diz respeito a uma emissão larga e assimétrica de alta intensidade, com seu máximo em ~613 nm no seu espectro de PL.

O acentuado efeito batocrômico observado no OE de eucalipto citriodora não foi observado em nenhuma das misturas. Na amostra de OE de citronela analisada anteriormente, este efeito batocrômico foi observado em misturas que envolviam os componentes citronelol e geraniol. Uma vez que a presença de geraniol não é esperada no OE de eucalipto citriodora, um outro álcool poderia ser responsável por este efeito em conjunto com o citronelol. A literatura cita a presença do componente linalol no OE de eucalipto citriodora como componente minoritário.

Com relação ao espectro de PL, foram obtidos espectros que apresentam certa semelhança com o OE de eucalipto citriodora em formato, porém com intensidades globais de emissão superiores. Estes sistemas eram formados por isopulegol-citronelal e isopulegol-citronelol. Ambos os sistemas indicam a presença de interações fortes entre os componentes citronelal e citronelol no estado excitado com o excímero do isopulegol. No entanto, o máximo de intensidade das emissões largas destas amostras (entre 593-595 nm) mostram-se um pouco distante daquele observado no OE de eucalipto citriodora (614 nm).

A mistura citronelal (89%) + citronelol (9%) + isopulegol (2%) apresentou uma emissão larga em ~614 nm, também presente no OE de eucalipto citriodora. No entanto, sua intensidade é ainda muito inferior ao que se observa no OE. Portanto, acredita-se que através de uma mistura com as proporções corretas entre os três componentes principais do OE de eucalipto citriodora (citronelal, citronelol e isopulegol) seja possível obter um espectro de PL muito similar ao do OE. Além disso, acredita-se que o efeito batocrômico presente no OE decorra de interações no estado fundamental com algum componente minoritário.

6.7 ÓLEO ESSENCIAL DE MENTA JAPONESA

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de menta japonesa, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.7.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença dos seguintes componentes na amostra de OE de menta japonesa:

1. Mentol;
2. Isomentona;
3. Acetato de mentila;
4. Limoneno;
5. α -terpineol;
6. Isopulegol;
7. Pulegona

sendo que as duas maiores áreas de pico detectadas foram atribuídas aos componentes mentol e isomentona. Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de menta japonesa podem ser vistos no Anexo 4 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura a respeito da composição deste OE (vide Tabela 3) também destacam a presença destes mesmos dois compostos como seus componentes majoritários, estes resultados mostram-se coerentes. A literatura também cita a presença dos demais compostos detectados como componentes minoritários.

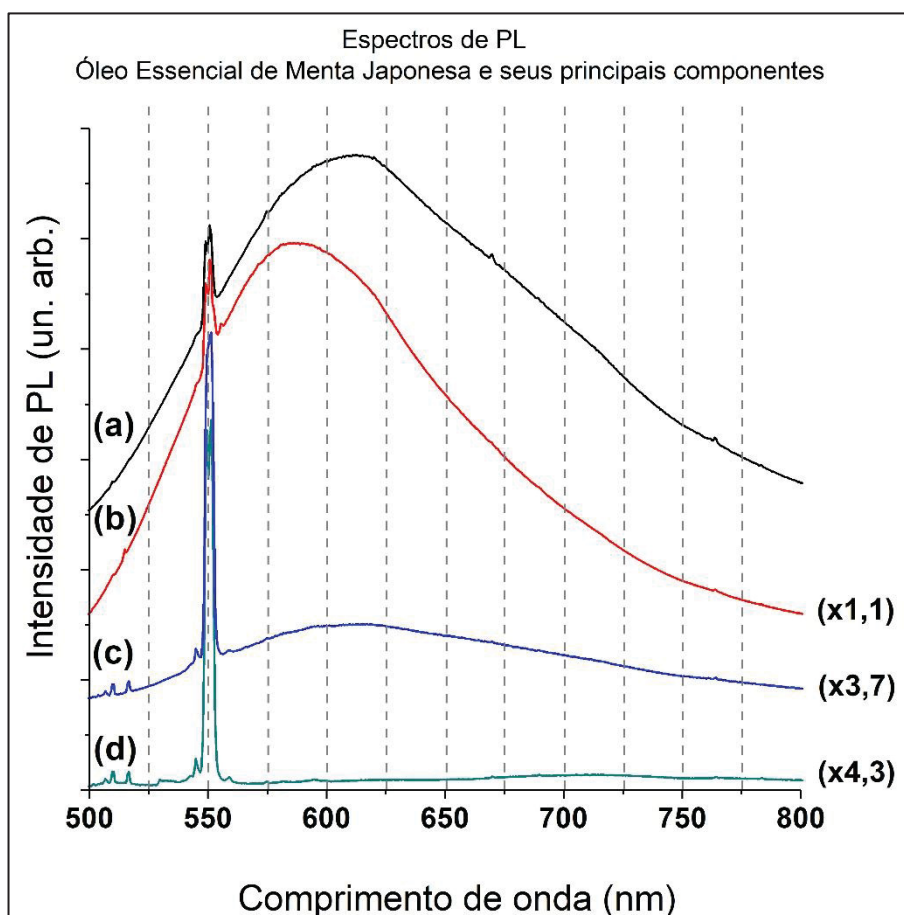
6.7.2 Misturas de componentes

Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de menta japonesa foram elaboradas as seguintes misturas:

1. Mentol (64%) + Mentona (36%)
2. Mentol (66%) + Isomentona (34%)
3. Isomentona (89%) + Isopulegol (11%)
4. Isomentona (55%) + Mentol (45%)
5. Isomentona (54%) + Mentol (44%) + Isopulegol (2%)

6.7.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Figura 43 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa (a) e seus principais componentes analisados: isopulegol (b), isomentona (c) e mentona (d).
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



Na Figura 43 apresentam-se os espectros de PL obtidos para o OE de menta japonesa e alguns de seus principais componentes (mentona, isomentona e isopulegol) para fins de comparação. Vale lembrar que, apesar do mentol ser o principal componente do OE de menta japonesa, este se apresenta sólido à temperatura ambiente e, dessa forma, sua PL não foi mensurada.

Com isso, é possível observar que o OE de menta japonesa apresenta, assim como todos os seus principais componentes analisados, uma emissão estreita e intensa em 550 nm. No entanto, a principal emissão da amostra de OE diz respeito a uma larga emissão com pico de intensidade em ~612 nm. O componente mentona não apresenta emissões largas no seu espectro. Já os compostos isopulegol e isomentona possuem uma emissão larga em 588 e 614 nm, respectivamente. Porém, no caso da isomentona, sua principal emissão (mais intensa) ainda é atribuída ao seu pico em ~550 nm e sua emissão larga apresenta uma intensidade relativa pequena. Desta forma, o isopulegol é o único componente que, assim como o OE, possui sua emissão mais larga como principal emissão.

Desta forma, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão possui certa semelhança com os espectros dos componentes isomentona e isopulegol. As posições dos picos de maior intensidade das emissões mais largas, tanto do OE, quanto da isomentona, estão próximas (~612 e ~614 nm, respectivamente). Com relação ao isopulegol, a maior semelhança com a amostra de OE está na intensidade relativa das suas principais emissões, as quais estão muito próximas.

Conforme foi discutido anteriormente, as emissões largas em maiores comprimentos de onda observadas nas amostras de isomentona e isopulegol, as quais possuem um alto grau de pureza, provavelmente devem estar associadas à formação de excímeros entre as moléculas destes compostos. Uma vez que o espectro de PL do OE diverge do espectro dos seus principais componentes (mentona e isomentona) em formato e intensidade e o isopulegol é um componente minoritário, é muito provável que efeitos de interações intermoleculares fortes entre seus componentes estejam atuando para a formação deste espectro que não se apresenta como uma simples sobreposição dos demais.

6.7.4 Absorbância UV-Vis

A Tabela 10 mostra as principais informações a respeito da absorbância/transmitância para o OE de menta japonesa, seus principais componentes e misturas entre seus componentes.

Tabela 10 - Comparação entre os dados de absorbância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de menta japonesa, seus principais componentes analisados e misturas entre seus principais componentes.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Menta Japonesa	342	-	97%
Isomentona	334	-	98%
Mentona	333	-	98%
Isopulegol	333	-	95%
Mentol (64%) + Mentona (36%)	326	-	98%
Mentol (66%) + Isomentona (34%)	327	-	97%
Isomentona (89%) + Isopulegol (11%)	336	-	100%
Isomentona (55%) + Mentol (45%)	332	-	100%
Isomentona (54%) + Mentol (44%) + Isopulegol (2%)	330	-	100%

É possível observar, quando se compara o limiar de absorção total do OE de menta japonesa com o dos seus componentes, que ele se encontra em um valor de comprimento de onda superior, representando um efeito batocrômico. Isto indica a existência de interações intermoleculares para esta mistura mesmo no estado fundamental. Uma vez que os principais componentes do OE são terpenóides com diferentes funções orgânicas (cetonas e álcoois), este fenômeno deve estar associado com interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo entre estas moléculas.

Uma vez que a região de alta absorção do OE e seus componentes não excederam os 380 nm, suas absorções ópticas ficaram compreendidas na região do UV, resultando em amostras com aspectos incolores e transparentes.

Além disso, também é possível constatar que a absorção na região de 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL, é pequena (valores de transmitância próximos a 100%). Desta forma, a existência

destes picos estreitos de emissão também no espectro de PL do OE de menta japonesa mostra-se coerente.

As misturas mentol (64%) + mentona (36%) e mentol (66%) + isomentona (34%) apresentaram um efeito hipsocrômico quando comparadas com a mentona e isomentona isoladas, no entanto, não é possível uma discussão mais aprofundada a respeito desta interação devido ao fato de que não possuímos o espectro de Abs-UV/Vis para o mentol em estado líquido. Contudo, é possível observar que nenhuma destas duas misturas apresentaram um limiar de absorção total próximo ao OE de menta japonesa.

Já para mistura isomentona (89%) + isopulegol (11%), foi possível observar um leve efeito batocrômico. A observação deste efeito nesta mistura, mesmo que pouco pronunciado, é muito importante quando observamos que o OE de menta japonesa também possui um efeito batocrômico no seu espectro de absorção quando comparado com seus principais componentes.

As misturas isomentona (55%) + mentol (45%) e isomentona (54%) + mentol (44%) + isopulegol (2%) possuem a mesma quantidade de isomentona e mentol. A única diferença é que para esta segunda mistura foi adicionada pequena fração de isopulegol para avaliar o efeito deste componente neste sistema. Conforme pôde ser visto, nada além de um leve efeito hipsocrômico foi constatado no espectro de absorção com a adição do isopulegol.

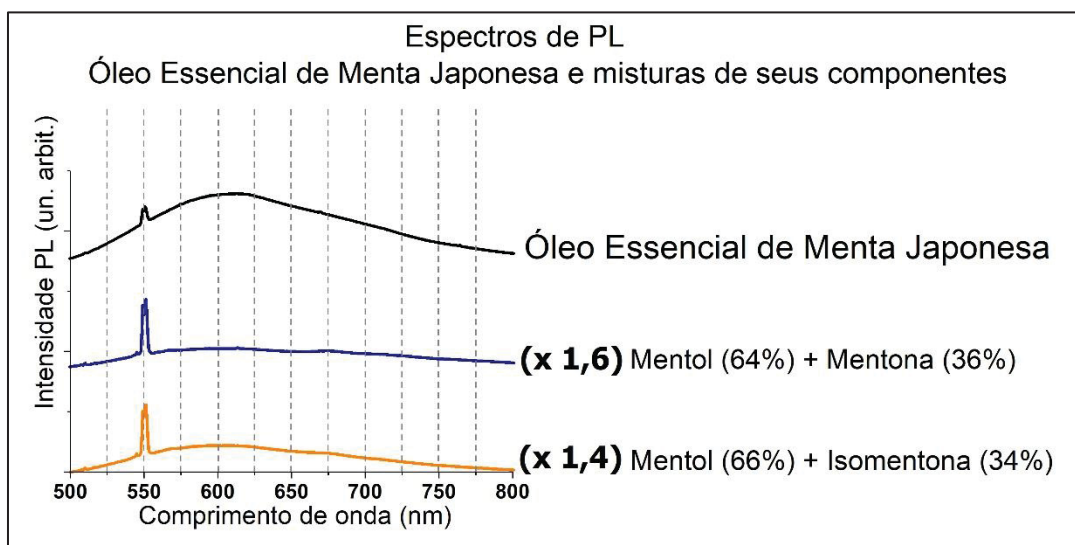
Com relação às absorções em 550 nm, nenhuma das misturas apresentou aumento significativo e isso pode ser visto pelas suas transmitâncias próximas a 100% nesta região.

6.7.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 44 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de menta japonesa e as misturas de mentol (64%) + mentona (36%) e mentol (66%) + isomentona (34%).

Figura 44 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial e menta japonesa e misturas de mentol (64%) + mentona (36%) e mentol (66%) + isomentona (34%).

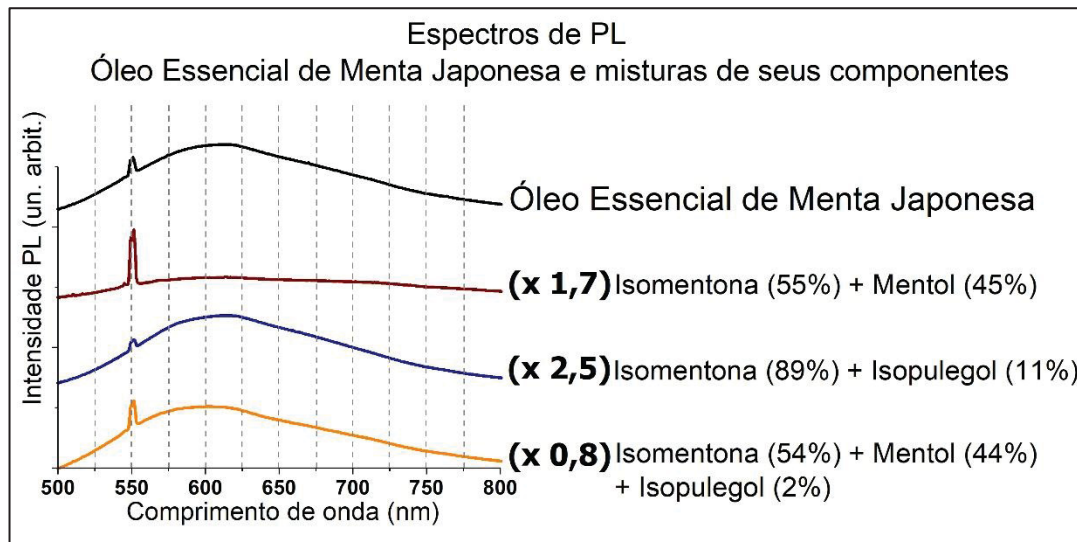
$\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O espectro de PL da mistura mentol (64%) + mentona (36%) não aponta a existência de nenhum efeito de interação forte no estado excitado, uma vez que o espectro resultante da mistura se assemelha muito ao da mentona isolada (vide Figura 43). Além disso, tanto seu formato quanto sua intensidade se diferem do que é observado no OE de menta japonesa.

Para a mistura mentol (66%) + isomentona (34%), o espectro de PL também não aponta a existência de nenhum efeito de interação forte no estado excitado, uma vez que o espectro resultante da mistura se assemelha muito com o espectro da isomentona isolada (vide Figura 43). Além disso, tanto seu formato quanto sua intensidade se diferem do que é observado no OE de menta japonesa.

Figura 45 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de menta japonesa e misturas dos seus componentes mentol, isomentona e isopulegol. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



Assim como na mistura de isomentona (34%) e mentol (66%) , o espectro de PL da mistura isomentona (55%) + mentol (45%), a qual possui os mesmos componentes em proporções diferentes, também não aponta a existência de nenhum efeito de interação forte no estado excitado, uma vez que o espectro resultante da mistura se assemelha muito com o espectro da isomentona isolada (vide Figura 43). Além disso, tanto seu formato quanto sua intensidade se diferem do que é observado no OE de menta japonesa.

A mistura isomentona (89%) + isopulegol (11%), apesar de ter apresentado um leve efeito batocrômico no seu estado fundamental (Abs-UV/Vis), não indica a presença de interações fortes no seu estado excitado. O espectro de PL resultante desta mistura se parece com uma sobreposição dos espectros dos seus componentes isolados (vide Figura 43). A mistura apresenta a típica emissão estreita em ~550 nm dos componentes isolados e uma emissão larga e assimétrica de maior intensidade com máximo de emissão em 614 nm. Uma vez que o isopulegol isolado já apresentava uma emissão larga de alta intensidade em 588 nm e a isomentona, por sua vez, também possuía uma emissão larga de intensidade intermediária em 614 nm, o espectro observado nesta mistura pode facilmente ser entendido como uma simples sobreposição destas emissões. Além disso, a baixa intensidade da emissão global desta mistura em comparação com o OE de menta também reforça esta hipótese. No entanto, apesar da intensidade inferior apresentada, esta mistura possui um espectro de PL com formato muito semelhante ao do OE de menta.

A amostra que possui isomentona (54%) + mentol (44%) + isopulegol (2%) foi elaborada com as mesmas quantidades de isomentona e mentol que a mistura de isomentona (55%) + mentol (45%) analisada anteriormente, no entanto, ela difere pela adição de pequena fração de isopulegol para avaliação do efeito deste componente. O espectro de Abs-UV/Vis não apontou o surgimento de interações fortes no estado fundamental, no entanto, seu espectro de PL apontou o surgimento de interações fortes no estado excitado. O aumento de intensidade pronunciado observado para a emissão larga de máximo em ~613 nm gerado pela adição de uma pequena de isopulegol indica interações fortes entre o mentol e o isopulegol no estado excitado, uma vez que as interações isopulegol-isomentona observadas anteriormente foram pequenas. Além disso, o formato do espectro de PL obtida por esta mistura se assemelha ao do espectro do OE de menta japonesa, tanto em formato quanto em intensidade global.

6.7.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de menta japonesa duas características ópticas que se distinguem dos seus principais componentes. A primeira diz respeito a um efeito batocrômico no espectro de Abs-UV/Vis e a segunda diz respeito a uma emissão larga e assimétrica de alta intensidade com seu máximo em torno de 612 nm no seu espectro de PL.

O efeito batocrômico acentuado observado no OE de menta japonesa não foi observado em nenhuma das misturas elaboradas. O único sistema a apresentar um leve efeito batocrômico foi o par isopulegol-isomentona. No entanto, vale destacar que alguns dos principais componentes presentes nesta amostra não foram avaliados, como o limoneno e o acetato de mentila. O limoneno, por ser um hidrocarboneto de caráter apolar, não é esperado de apresentar interações intermoleculares fortes no estado fundamental. Já o acetato de mentila poderia apresentar esta característica, por se tratar de um éster com caráter mais polar.

Com relação ao espectro de PL, foram obtidos espectros que apresentam uma excelente concordância com o OE de menta japonesa em intensidade e formato através da mistura entre isomentona (54%), mentol (44%) e isopulegol (2%). Esta mistura revelou efeitos fortes de interação entre o mentol e o isopulegol no estado excitado e, devido a isso, acredita-se que a emissão larga de alta intensidade presente

no OE de menta japonesa se deve, principalmente a esta interação entre estes dois componentes. A assimetria presente nesta emissão larga do OE de menta com máximo de emissão próximo de ~ 613 nm se deve, provavelmente, à emissão do excímero da isomentona que se encontra em grandes quantidades na amostra, mas não demonstrou nenhuma interação significativa com os demais componentes.

Portanto, acredita-se que através de uma mistura com as proporções corretas entre mentol, isomentona e isopulegol (três componentes majoritários do OE de menta japonesa) é possível obter um espectro de PL muito similar ao do próprio OE com os mesmos mecanismos de luminescência.

Além disso, o efeito batocrômico presente no OE é decorrente de interações no estado fundamental com algum componente majoritário ou minoritário que não foi avaliado. Um forte candidato seria o acetato de mentila, devido a ser um componente majoritário de caráter polar.

6.8 ÓLEO ESSENCIAL DE BOTÃO DE CRAVO

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de botão de cravo, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.8.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença dos seguintes componentes na amostra de OE de botão de cravo:

1. Eugenol;
2. Cariofileno.

sendo que a maior área de pico detectada foi atribuída ao componente eugenol. Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de botão de cravo podem ser vistos no Anexo 5 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura a respeito da composição deste OE (vide Tabela 4) também destacam a presença destes dois compostos como majoritários, onde o eugenol representa o principal componente, estes resultados mostram-se coerentes. Pela Tabela 4 também é possível observar que a literatura cita a presença do acetato de eugenila como um dos principais constituintes do o OE de botão de cravo, desta forma, mesmo que esta molécula não tenha sido detectada neste ensaio, sua presença na amostra analisada não deve ser desconsiderada.

6.8.2 Misturas de componentes

Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de botão de cravo foram elaboradas as seguintes misturas:

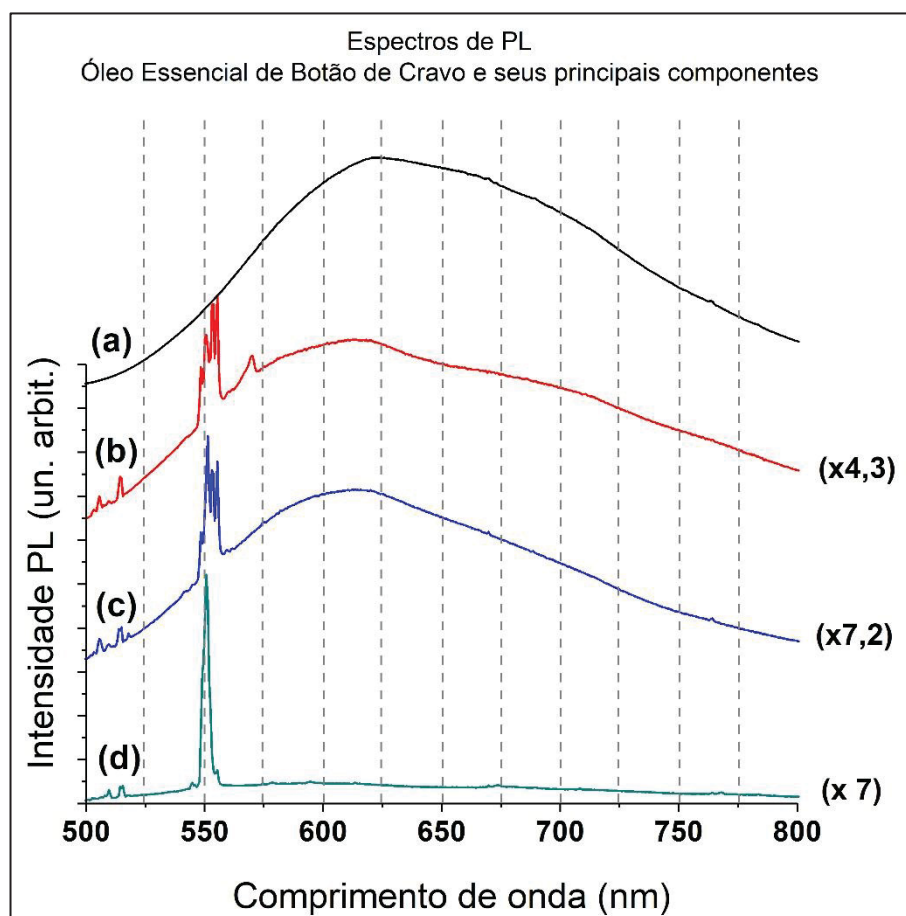
1. Eugenol (70%) + Cariofileno (30%)
2. Eugenol (88%) + Acetato de Eugenila (12%)
3. Acetato de Eugenila (80%) + Cariofileno (20%)
4. Eugenol (65%) + Cariofileno (24%) + Acetato de Eugenila (11%)

6.8.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Na Figura 46 estão presentes os espectros de PL obtidos para o OE de botão de cravo e seus principais componentes (eugenol, acetato de eugenila e cariofileno) para fins de comparação.

Figura 46 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de botão de cravo (a) e seus principais componentes: eugenol (b), acetato de eugenila (c) e cariofileno (c).

$\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



O OE de botão de cravo não apresenta, diferente de todos os seus principais componentes analisados, emissões estreitas e intensas na região de 550-555 nm. A principal, e única, emissão da amostra de OE diz respeito a uma larga emissão com pico de intensidade em $\sim 621 \text{ nm}$. O componente cariofileno não apresenta emissões largas no seu espectro. Já os compostos eugenol e acetato de eugenila possuem uma emissão larga em 611 e 614 nm, respectivamente. Porém, em ambos os casos, a principal emissão (mais intensa) é atribuída aos picos estreitos na região de 550-555 nm.

Desta forma, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão possui diferenças significativas em relação ao espectro dos seus principais componentes. Além das diferenças no formato do espectro, citadas anteriormente, a amostra de OE possui uma intensidade relativa de emissão superior aos seus componentes (cerca de 4 a 7 vezes maior).

Conforme foi discutido anteriormente, as emissões largas em maiores comprimentos de onda observadas nas amostras de eugenol e acetato de eugenila, as quais possuem um alto grau de pureza, provavelmente devem estar associadas à formação de excímeros entre as moléculas destes compostos. Uma vez que o espectro de PL do OE diverge do espectro dos seus principais componentes em formato e intensidade, é muito provável que efeitos de interações intermoleculares fortes entre seus componentes estejam atuando para a formação deste espectro que não se apresenta como uma simples sobreposição dos demais.

6.8.4 Absorbância UV-Vis

A Tabela 11 mostra as principais informações a respeito da absorbância/transmitância para o OE de botão de cravo, seus principais componentes e misturas entre seus componentes.

Tabela 11 - Comparação entre os dados de absorbância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de botão de cravo, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Botão de Cravo	437	-	31%
Eugenol	366	-	95%
Acetato de eugenila	356	-	97%
Cariofileno	332	-	96%
Eugenol (70%) + Cariofileno (30%)	400	-	71%
Eugenol (88%) + Acetato de Eugenila (12%)	424	-	58%
Acetato de Eugenila (80%) + Cariofileno (20%)	363	-	98%
Eugenol (65%) + Cariofileno (24%) + Acetato de Eugenila (11%)	411	-	57%

É possível observar, quando se compara o limiar de absorção total do OE de menta japonesa com o dos seus componentes, que ele se encontra em um valor de comprimento de onda superior, representando um forte efeito batocrômico. Isto indica a existência de interações intermoleculares para esta mistura mesmo no estado fundamental. Uma vez que os principais componentes do OE são compostos aromáticos com diferentes funções orgânicas (éster e álcool), este fenômeno deve estar associado com interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo entre estas moléculas e a existência de anéis aromáticos nestas estruturas deve pronunciar o efeito destas interações.

Embora o OE de botão de cravo e o eugenol apresentem seus picos de absorção em 437 e 366 nm, respectivamente, a absorção óptica destas amostras na região do visível se estende com uma intensidade considerável para além dos 500 nm. Desta forma, a coloração marrom-castanho destas amostras pode ser atribuída a estas diferentes porções do espectro visível absorvidas pelas mesmas. Uma vez que a absorção óptica do acetato de eugenila e do cariofileno ficou compreendida na região do UV, estas amostras apresentam um aspecto incolor e transparente.

Além disso, também é possível constatar que a absorção na região de 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL, embora seja pequena (valores de transmitância próximos a 100%) para os componentes individuais, ela é muito acentuada para o OE de botão de cravo, com uma transmitância de apenas 31%. Desta forma, a inexistência destes picos estreitos de emissão no espectro de PL do OE de botão de cravo mostra-se coerente.

Levando em consideração o forte efeito batocrômico apresentado no OE de botão de cravo, sua alta absorção na região de 550 nm e sua alta intensidade de emissão de PL em comparação aos seus componentes principais, existem fortes indicativos do efeito de FRET nesta amostra.

A mistura eugenol (70%) + cariofileno (30%) apresentou um forte efeito batocrômico. Além disso, a absorção na região de 550 nm que era muito pequena para estes compostos isolados também apresentou um aumento considerável que pode ser visto pela diminuição na sua transmitância de 95-96% para 71% nesta faixa. Isto mostra que estes dois componentes apresentam fortes interações intermoleculares mesmo no estado fundamental.

A mistura eugenol (88%) + acetato de eugenila (12%) também apresentou um forte efeito batocrômico. Além disso, a absorção na região de 550 nm que era muito

pequena para estes compostos isolados (95-97%) apresentou um aumento ainda mais considerável que a mistura anterior, diminuindo sua transmitância para 58% nesta faixa. Isto mostra que estes dois componentes também apresentam fortes interações intermoleculares mesmo no estado fundamental.

A mistura acetato de eugenila (80%) + cariofileno (20%) por sua vez, também apresentou um efeito batocrômico, no entanto em menor grau que as misturas anteriores. Além disso, sua transmitância na região de 550 nm continuou muito próxima de 100% assim como nos seus componentes isolados. Apesar de apresentar menores alterações no seu espectro de Abs-UV/Vis, o efeito batocrômico apresentado mostra que também existem interações intermoleculares entre estes compostos no estado fundamental.

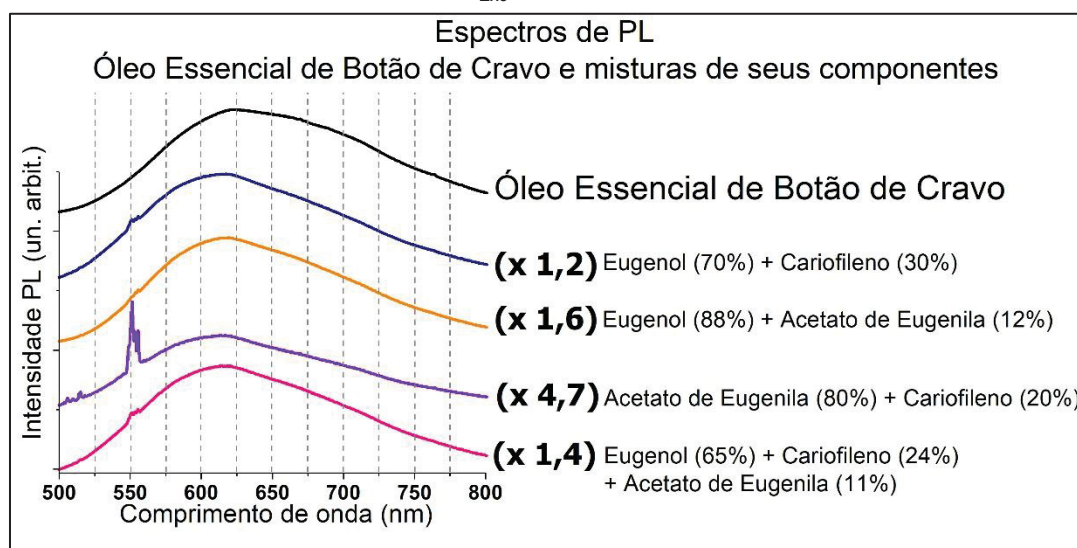
Desta forma, a última mistura elaborada avalia os efeitos destes três componentes em um mesmo sistema. O que é observado é o já esperado efeito batocrômico, em um valor intermediário àqueles observados nas misturas anteriores e uma absorvância alta (transmitância de 57%) na região de 550 nm.

Desta forma, nenhuma das misturas elaboradas apresentou um efeito batocrômico tão pronunciado quanto aquele observado no OE de botão de cravo. A amostra que mais se aproximou foi a mistura eugenol (88%) + acetato de eugenila (12%), com um limiar de absorção em 424 nm, ainda abaixo do valor encontrado para o óleo (437 nm).

6.8.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 47 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de botão de cravo e de misturas entre seus três principais componentes: eugenol, cariofileno e acetato de eugenila.

Figura 47 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial e botão de cravo e misturas dos seus três principais componentes: eugenol, cariofileno e acetato de eugenila.
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A mistura eugenol (70%) + Cariofileno (30%) havia apresentado um efeito batocrômico bem pronunciado, indicando interações intermoleculares fortes no estado fundamental. Além disso, ela também apresentou um grande aumento de absorção em 550 nm. O espectro de PL revelou uma supressão dos picos estreitos de alta intensidade que eram observados entre 550-555 nm nos componentes isolados (vide Figura 46), indicando a existência do fenômeno de FRET, o qual está associado ao seu forte efeito batocrômico com aumento da absorção na região de 550 nm. Além disso, a emissão larga com máximo de emissão em ~614 nm, presente no componente eugenol isolado (excímero), foi potencializada e sua intensidade se aproximou à aquela observada no OE de botão de cravo. Embora o espectro de PL desta mistura se assemelhe com o do OE de botão de cravo em vários aspectos, ainda existem algumas divergências significativas. A principal delas é o aparente deslocamento geral da emissão presente no OE para comprimentos de ondas maiores. Além disso, os picos estreitos de emissão na região de 550-555 nm se mostram completamente suprimidos no óleo.

A mistura eugenol (88%) + acetato de eugenila (12%) havia apresentado um efeito batocrômico ainda mais pronunciado que a anterior, indicando interações intermoleculares significativas no estado fundamental. Além disso, ela também apresentou um grande aumento de absorção em 550 nm. O espectro de PL revelou uma supressão dos picos estreitos de alta intensidade que eram observados entre 550-555 nm nos componentes isolados (vide Figura 46), indicando a existência do fenômeno de FRET, o qual está associado ao seu forte efeito batocrômico e aumento da absorção na região de 550 nm. Além disso, a emissão larga com máximo de emissão em ~614 nm, presente em ambos os componentes isolados, foi potencializada e sua intensidade se aproximou àquela observada no OE de botão de cravo. Embora o espectro de PL desta mistura se assemelhe ainda mais com o do OE de botão de cravo em vários aspectos, ainda existem algumas divergências significativas. A principal delas, novamente é o aparente deslocamento geral da emissão presente no OE para comprimentos de ondas maiores e os picos estreitos de emissão na região de 550-555 nm completamente suprimidos.

Diferente das amostras anteriores, a mistura acetato de eugenila (80%) + cariofileno (20%) não apresentou um efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis. Seu espectro de PL também não aparenta a existência de interações fortes no estado excitado entre o acetato de eugenila e o cariofileno. De fato, o espectro resultante se parece muito com o espectro do acetato de eugenila com um leve aumento da sua intensidade global (vide Figura 46).

A mistura entre os três principais componentes do OE de botão de cravo, eugenol (65%) + cariofileno (24%) + acetato de eugenila (11%), também apresentou um forte efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis. No entanto, este efeito não foi tão pronunciado quanto a mistura eugenol (88%) + acetato de eugenila (12%). Isto também pode ser constatado pela supressão reduzida dos picos estreitos na região de 550-555 nm. Seu espectro de PL também se assemelha com aquele observado para o par eugenol e acetato de eugenila, no entanto, ele mostra uma diferença interessante. Sua emissão mais larga apresentou um máximo de emissão em torno de ~618 nm, um valor mais próximo daquele visto para o OE de botão de cravo (~620 nm). Desta forma, acredita-se que a adição de cariofileno neste sistema pode ser um dos responsáveis por este deslocamento da emissão para comprimentos de ondas maiores.

6.8.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de botão de cravo três características ópticas que se distinguem dos seus principais componentes. A primeira diz respeito a um efeito batocrômico no espectro de Abs-UV/Vis, a segunda diz respeito à supressão das emissões estreitas de alta intensidade presentes na região de 550-555 nm, e a terceira à uma emissão larga e assimétrica de alta intensidade com seu máximo em torno de 620 nm no seu espectro de PL.

O efeito batocrômico acentuado observado no OE de botão de cravo foi observado, em menor grau, nas misturas envolvendo o componente eugenol com os componentes cariofileno e acetato de eugenila. A mistura eugenol (88%) + acetato de eugenila (12%) foi a que apresentou o limiar de absorção total mais próximo do OE de botão de cravo. Um valor de 424 nm foi medido para a mistura, enquanto que para o OE foi medido 437 nm.

Com relação ao espectro de PL, foram obtidos espectros que apresentam uma excelente concordância com o OE de botão de cravo em intensidade e formato através das misturas que contém eugenol na sua composição. Estas misturas revelaram a existência do fenômeno de FRET devido ao efeito batocrômico no estado fundamental que gera um aumento da banda de absorção na região de 550-555 nm nestes sistemas. Desta forma, os excímeros observados para o eugenol e para o acetato de eugenila têm suas emissões largas com máximo localizado em ~614 nm potencializadas. Além disso, o sistema contendo os três componentes (eugenol, acetato de eugenila e cariofileno) demonstrou um deslocamento do máximo de emissão para um valor (~618 nm) mais próximo daquele visto no óleo (~620 nm).

Portanto, acredita-se que através de uma mistura com as proporções corretas entre eugenol, acetato de eugenila e cariofileno (os três componentes majoritários do OE de botão de cravo) é possível obter um espectro de PL muito similar ao do próprio óleo com os mesmos mecanismos de luminescência.

Porém, vale ressaltar que o deslocamento para comprimentos de ondas maiores observado no espectro de PL do OE de botão de cravo não foi replicado por nenhuma das misturas elaboradas. Desta forma, este efeito pode estar relacionado com a proporção entre os componentes majoritários ou então com componentes minoritários.

6.9 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA AMARGA

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de laranja amarga, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.9.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença do seguinte componente na amostra de OE de laranja amarga:

1. Limoneno.

Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de laranja amarga podem ser vistos no Anexo 6 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura a respeito da composição deste OE (vide Tabela 5) também destacam o limoneno como seu principal componente, este resultado mostra-se coerente. A literatura também cita a presença do terpineno como um composto majoritário para este tipo de OE, desta forma, mesmo que esta molécula não tenha sido detectada neste ensaio, sua presença na amostra analisada não deve ser desconsiderada. Além do terpineno, a presença de clorofila nesta amostra também será levada em consideração, conforme discutido previamente.

6.9.2 Misturas de componentes

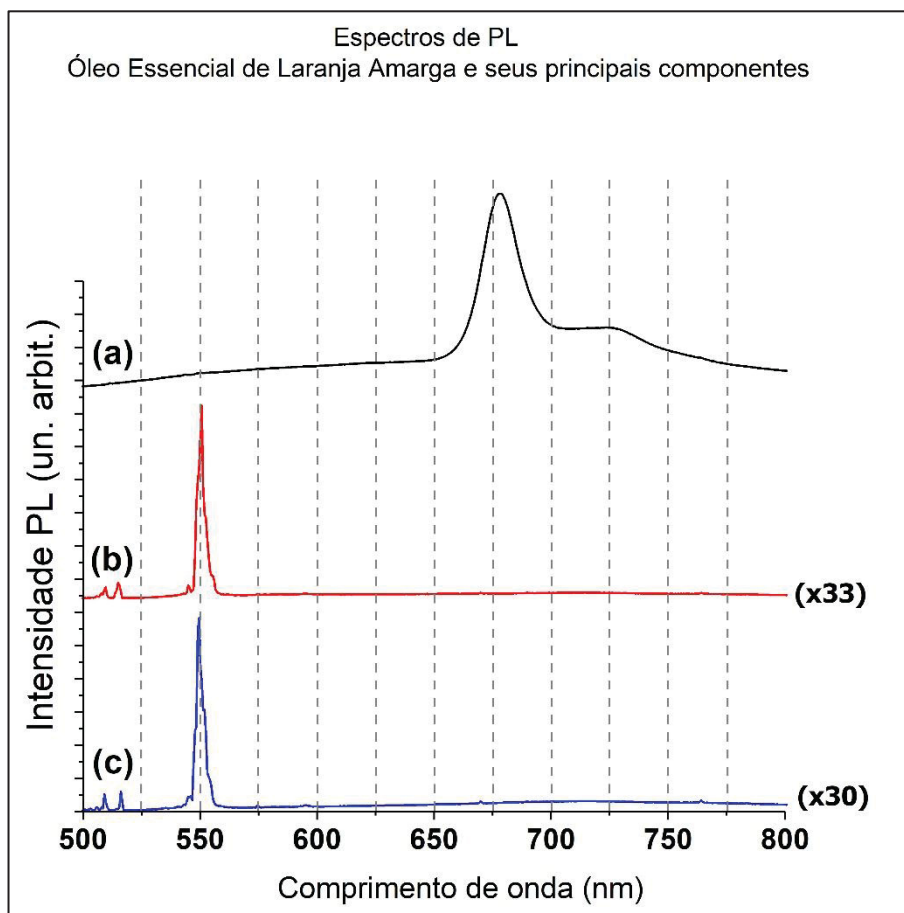
Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de laranja amarga foram elaboradas as seguintes misturas:

1. Limoneno (79%) + Terpineno (21%)
2. Limoneno (100%) + Clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)
3. Limoneno (100%) + Clorofila ($6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)

6.9.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Na Figura 48 estão presentes os espectros de PL obtidos para o OE de laranja amarga e seus principais componentes (limoneno e terpineno) para fins de comparação.

Figura 48 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga (a) e seus principais componentes: limoneno (b) e terpineno (c). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



Não é possível observar no OE de laranja amarga, diferente de todos os seus principais componentes analisados, uma emissão estreita e intensa em 550 nm. O espectro de PL do OE apresenta emissões largas e intensas que ocorrem em comprimentos de onda maiores (~625, ~678 e ~724 nm), no entanto os componentes apresentam apenas emissões estreitas em uma região diferente do espectro, com intensidades relativas muito inferiores (cerca de 30 vezes menor).

Desta forma, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão não possui nenhuma semelhança com os de seus principais componentes. De fato, o formato do

espectro de PL do OE de laranja amarga não apresenta nenhuma semelhança com nenhum dos componentes analisados neste trabalho. No entanto, conforme já foi discutido, seu espectro de PL se assemelha ao espectro de emissão da clorofila no vermelho.

Dadas as marcantes diferenças, em formato e intensidade, é muito provável que, além de efeitos de interações intermoleculares fortes, pigmentos contaminantes minoritários estejam atuando para a formação deste espectro.

6.9.4 Absorbância UV-Vis

As misturas contendo clorofila tiveram suas concentrações determinadas após sua preparação, conforme foi explicado anteriormente, através de medidas de Abs-UV/Vis e do uso da Lei de Lambert-Beer (vide Figura 23). A amostra composta por limoneno com $18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL de clorofila possui uma absorbância de 0,119 em 670 nm, enquanto que amostra de limoneno com $6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL possui uma absorbância de 0,043 neste mesmo comprimento de onda. Seguindo este mesmo procedimento, também foi possível aferir a concentração de clorofila na amostra de OE de laranja amarga. A absorbância em 670 nm para o OE foi de 0,033 e isto corresponde a uma concentração de clorofila de $5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL.

A Tabela 12 mostra as principais informações a respeito da absorvância/transmitância para o OE de laranja amarga, seus principais componentes e misturas entre seus componentes.

Tabela 12 - Comparação entre os dados de absorvância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de laranja amarga, seus principais componentes misturas entre seus principais componentes.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Laranja Amarga	433	670	87%
Limoneno	309	-	94%
Terpineno	299	-	95%
Limoneno (79%) + Terpineno (21%)	308	-	97%
Limoneno (100%) + Clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)	355	670	94%
Limoneno (100%) + Clorofila ($6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)	350	-	98%

É possível observar que o limiar de absorção total do OE de laranja amarga se encontra acima do de seus componentes, representando um forte efeito batocrômico. Uma vez que os componentes principais deste óleo são hidrocarbonetos, a existência de interações intermoleculares fortes no estado fundamental mostra-se pouco provável, de tal forma que este efeito batocrômico muito pronunciado pode estar associado com algum componente minoritário.

Uma vez que o OE de laranja amarga apresenta uma forte absorção na região de 420-440 nm, a cor azul-violeta é absorvida e gera uma solução de coloração amarelada. Já a absorção óptica do limoneno e do terpineno fica compreendida na região do UV, e estas amostras apresentam aspecto incolor e transparente.

Outra coisa que chama atenção no espectro de absorção do OE de laranja amarga é o pico de absorção de menor intensidade na região de ~670 nm. Como já discutido previamente, este pico de absorção é característico da clorofila e reforça a suspeita da presença deste pigmento no OE.

Além disso, também é possível constatar que a absorção na região de 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL, embora seja pequena (valores de transmitância próximos a 100%) para os componentes individuais, ela é um pouco mais acentuada para o OE de laranja amarga, o que pode explicar a menor intensidade destes picos no espectro de PL do óleo.

Levando em consideração o espectro de PL e de Abs-UV/Vis com picos característicos da clorofila, o forte efeito batocrômico apresentado, sua absorção mais pronunciada na região de 550 nm e sua alta intensidade de emissão de PL em comparação aos seus componentes principais, existem fortes indicativos do efeito de FRET nesta amostra envolvendo componentes minoritários (pigmentos de clorofila contaminantes).

A mistura limoneno (79%) + terpineno (21%) apresentou um valor de limiar de absorção total muito próximo ao do limoneno. Uma vez que ambos os compostos são hidrocarbonetos de caráter apolar, era esperado a presença de poucas interações intermoleculares.

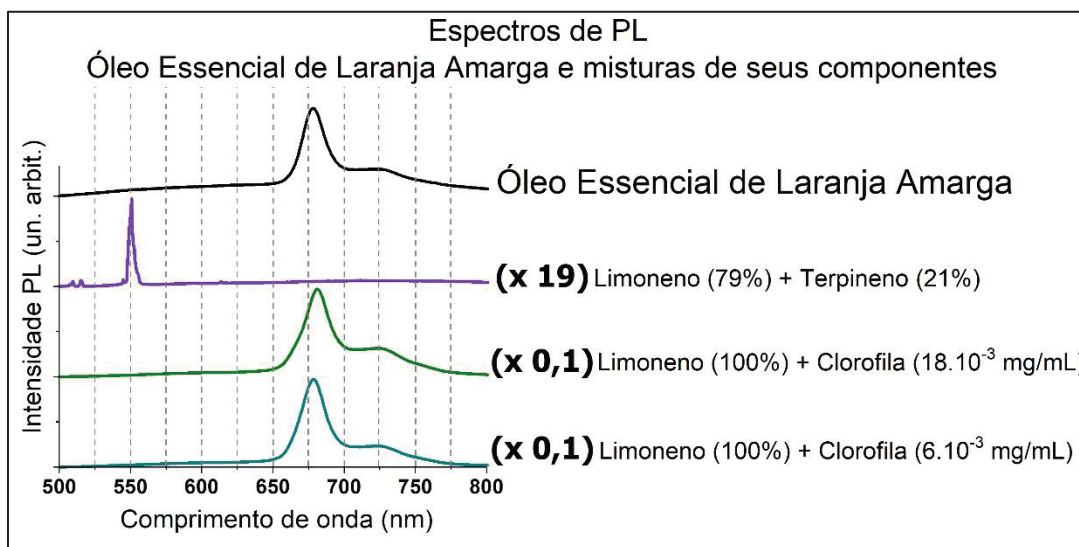
No entanto, as amostras de limoneno com clorofila diluída apresentaram um efeito batocrômico considerável. A amostra mais concentrada em clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) apresentou um efeito mais pronunciado que a amostra mais diluída ($6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL). A amostra mais concentrada apresentou um limiar de absorção total (355 nm) mais próximo do observado para o OE de laranja amarga (433 nm). A amostra mais diluída apresentou um limiar de absorção total em 350 nm que, apesar de ser mais distante do valor observado para o óleo, é superior à observada para o limoneno (309 nm).

Desta forma, foi possível observar que existem fortes interações entre o principal componente deste OE, o limoneno, e os pigmentos de clorofila no estado fundamental. Também foi possível observar que os efeitos destas interações se alteram em função da concentração de clorofila.

6.9.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 49 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de laranja amarga e das misturas entre seus componentes limoneno com terpineno e limoneno com clorofila.

Figura 49 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de laranja amarga e misturas dos seus componentes limoneno com terpineno e limoneno com clorofila.
 $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A mistura limoneno (79%) + terpineno (21%) não apresentou nenhum efeito significativo no seu estado fundamental (Abs-UV/Vis) e nem no estado excitado, uma vez que seu espectro de PL se assemelha muito ao dos seus componentes isolados (vide Figura 48). Uma vez que estes componentes são dados como majoritários para este OE, podendo representar praticamente 100% da amostra, a constatação de um espectro de PL para a mistura dos mesmos que não se assemelha nem em formato nem em intensidade com o OE de laranja amarga confirma a atuação de componentes minoritários na composição deste espectro.

O espectro obtido para a mistura contendo apenas limoneno e clorofila dissolvida (18.10^{-3} mg/mL), além de apresentar um efeito batocrômico (assim como visto para o OE de laranja), também possui um formato de PL muito semelhante ao óleo. Apesar da sua intensidade global cerca de 10 vezes maior que a observada para o óleo, suas emissões nas regiões de 500-650 nm, ~678 nm e ~724 nm são muito semelhantes. Além da intensidade de emissão, há uma pequena diferença entre os espectros que chama atenção, no que diz respeito ao pequeno deslocamento do

maior pico de emissão. No OE de laranja ele se encontra em torno de 678 nm, enquanto que na mistura se apresenta em torno de 681 nm.

A amostra de limoneno com $6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL de clorofila dissolvida, apresentou um efeito batocrômico em um menor grau quando comparado com a mistura de limoneno + clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL). Desta forma, é possível constatar uma dependência do efeito batocrômico com a concentração de clorofila dissolvida em solução, no entanto, uma vez que a concentração de clorofila aferida para o próprio OE de laranja amarga foi de $5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL, um valor inferior às duas amostras elaboradas com clorofila em solução, vemos que o efeito batocrômico não depende exclusivamente da concentração deste pigmento, e fatores como a presença de outros componentes minoritários também devem possuir influência. Além disso, o espectro de PL desta mistura se assemelha ainda mais com o OE de laranja amarga no que diz respeito à posição das suas emissões, apresentando o pico de maior intensidade na mesma posição do óleo (~678 nm). Apesar destas semelhanças adicionais, sua intensidade de emissão global continua muito maior que a do óleo (cerca de 10 vezes), ressaltando novamente a possível influência dos demais componentes minoritários do OE nas suas propriedades ópticas.

6.9.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de laranja amarga características ópticas completamente distintas daquelas dos seus principais componentes terpenos. O óleo apresenta um efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis e picos de emissões intensos na região do vermelho.

Apesar do espectro de PL dos seus principais componentes (limoneno e terpineno) não apresentarem nenhuma destas características, mostrando apenas as típicas emissões estreitas em torno de 550 nm observada nos demais componentes, a adição de clorofila ao limoneno acarretou, embora em diferentes intensidades, o aparecimento de todas as características ópticas presentes no OE de laranja amarga.

Desta forma, constata-se que os picos de emissão no vermelho observados no espectro de PL deste óleo são atribuídos à clorofila, a qual possui interações muito fortes com o limoneno no estado fundamental. Estas interações acarretam um efeito batocrômico muito pronunciado e um aumento significativo da absorção óptica deste sistema na região de 550 nm. Nesta região, o limoneno e os demais componentes

deste óleo essencial possuem uma banda de emissão intensa, esta energia é então transferida para as moléculas de clorofila pelo fenômeno de FRET, o que resulta em emissões muito intensas por parte desta molécula. Tais emissões acabam apresentando uma intensidade muito superior (uma ordem de grandeza maior) do que aquela presente nos terpenos, terpenóides e compostos aromáticos analisados neste estudo. Tais constatações são análogas aquelas obtidas pelo estudo de Araújo *et al.* (2016), onde o fenômeno de FRET foi observado entre os componentes do óleo de cúrcuma e o pigmento curcumina.

Também é válido ressaltar que foi observada uma dependência do efeito batocrômico e do espectro de PL com a concentração de clorofila no sistema e da presença de componentes minoritários, uma vez que o efeito batocrômico do OE de laranja amarga mostra-se muito superior ao de qualquer uma das amostras preparadas.

6.10 ÓLEO ESSENCIAL DE BERGAMOTA

Os resultados obtidos pelas medidas de GC-MS, Abs-UV/Vis e PL para o OE de bergamota, bem como a análise e comparação destas propriedades ópticas para seus principais componentes e misturas de componentes, estão descritos a seguir.

6.10.1 Cromatografia gasosa

A análise de GC-MS realizada apontou, com um fator de similaridade de 95% ou superior, a presença dos seguintes componentes na amostra de OE de bergamota:

1. Limoneno;
2. Acetato de linalina;
3. Linalol;
4. β -pineno;
5. Terpineno;
6. O-cimeno;
7. α -pineno;
8. Mirceno,

sendo que as três maiores áreas de pico detectadas, da maior para a menor, foram atribuídas a: limoneno, acetato de linalina e linalol. Os resultados desta análise cromatográfica para o OE de bergamota podem ser vistos no Anexo 7 deste trabalho. Uma vez que as informações disponíveis na literatura a respeito da composição deste OE (vide Tabela 6) também destacam a presença destes mesmos três compostos como seus componentes majoritários, estes resultados mostram-se coerentes. A literatura também cita a presença dos demais compostos detectados como componentes minoritários.

6.10.2 Misturas de componentes

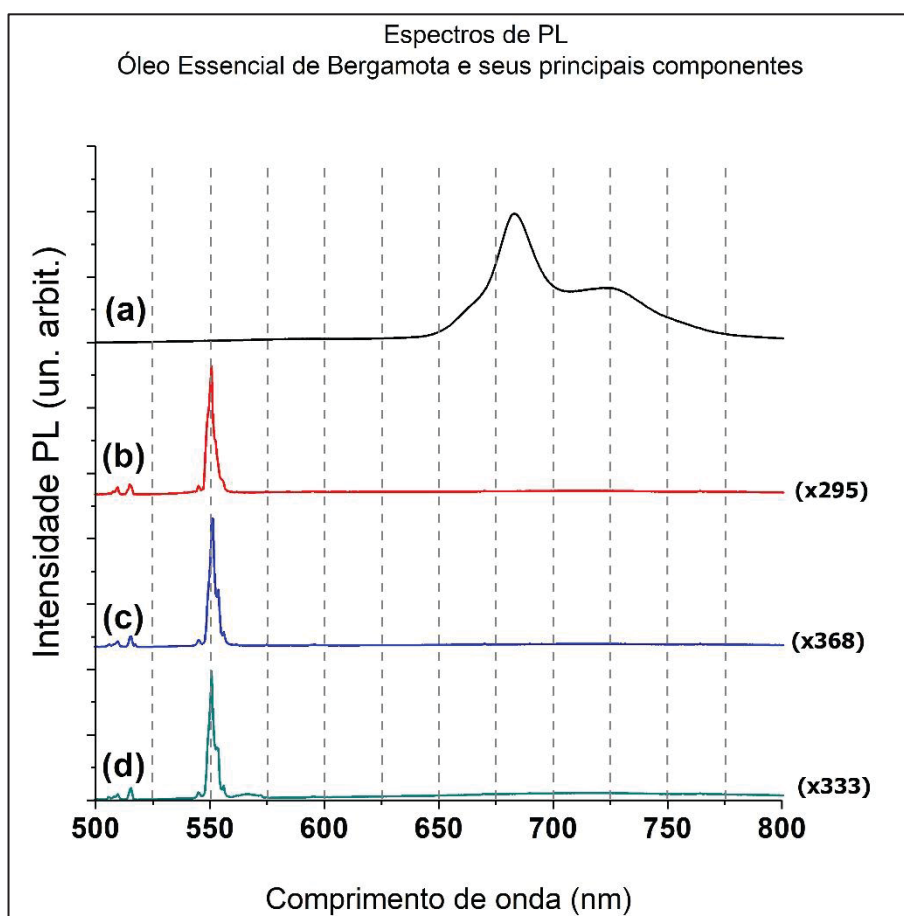
Para a análise das possíveis interações entre os componentes do OE de bergamota foram elaboradas as seguintes misturas:

1. Limoneno (61%) + Acetato de Linalina (39%)
2. Limoneno (80%) + Linalol (20%)
3. Acetato de Linalina (60%) + Linalol (40%)
4. Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%)
5. Limoneno (100%) + Clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)
6. Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%) + Clorofila (0,424 mg/mL)
7. Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%) + Clorofila ($95 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)

6.10.3 Fotoluminescência - Óleo essencial vs. Componentes

Na Figura 50 estão presentes os espectros de PL obtidos para o OE de bergamota e seus principais componentes (limoneno, acetato de linalina e linalol) para fins de comparação.

Figura 50 - Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota (a) e seus principais componentes: limoneno (b), acetato de linalina (c) e linalol (d). $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



É possível observar para a amostra de OE de bergamota algo muito semelhante com o que foi observado para o OE de laranja amarga.

Enquanto todos os seus principais componentes analisados apresentam uma emissão estreita e intensa em 550 nm, o OE exibe emissões mais largas e intensas que ocorrem em comprimentos de onda maiores (~600, ~662, ~682 e ~723 nm). Nenhum dos componentes sequer apresenta emissões largas no seu espectro, suas emissões são todas estreitas, em uma região diferente do espectro e com intensidades relativas muito inferiores (cerca de 300 vezes menor).

Desta forma, fica evidente que o espectro de PL do OE em questão não possui nenhuma semelhança com o espectro dos seus principais componentes, assim como o caso da laranja amarga, e sua intensidade de emissão é muito maior do que a de qualquer outra amostra analisada neste trabalho. Conforme já foi discutido, seu espectro de PL se assemelha ao da emissão no vermelho da clorofila.

Portanto, dado não haver absolutamente nenhuma semelhança entre o espectro de PL deste OE e os dos seus principais componentes, é muito provável que, além de efeitos de interações intermoleculares fortes, haja pigmentos contaminantes minoritários que contribuem expressivamente com sinal de PL.

6.10.4 Absorbância UV-Vis

As misturas contendo clorofila tiveram suas concentrações determinadas após sua preparação, conforme foi explicado anteriormente, através de medidas de Abs-UV/Vis e do uso da Lei de Lambert-Beer (vide Figura 23). A amostra composta por limoneno com $18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL de clorofila possui uma absorbância de 0,119 em 670 nm, enquanto que amostra de limoneno (45%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%) + clorofila (0,424 mg/mL) e a amostra de limoneno (45%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%) + clorofila ($95 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) possuem uma absorbância de 2,858 e 0,637, respectivamente, neste mesmo comprimento de onda. Seguindo este mesmo procedimento, também foi possível aferir a concentração de clorofila na amostra de OE de bergamota. A absorbância em 670 nm para o OE foi de 0,949 e isto corresponde a uma concentração de clorofila de 0,141 mg/mL.

A Tabela 13 mostra as principais informações a respeito da absorbância/transmitância para o OE de bergamota, seus principais componentes e misturas entre seus componentes.

Tabela 13 - Comparação entre os dados de absorbância no ultravioleta e visível (250 a 800 nm) para o óleo essencial de bergamota, seus principais componentes e misturas entre seus principais componentes.

Amostra	Limiar de absorção total (nm)	Outros picos de absorção (nm)	Transmitância em 550 nm
Óleo essencial de Bergamota	420	670	70%
Limoneno	309	-	94%
Acetato de linalina	266	-	99%
Linalol	293	-	99%
Limoneno (61%) + Acetato de Linalina (39%)	314	-	97%
Limoneno (80%) + Linalol (20%)	310	-	97%
Acetato de Linalina (60%) + Linalol (40%)	304	-	97%
Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%)	335	-	100%
Limoneno (100%) + Clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)	355	670	94%
Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%) + Clorofila (0,424 mg/mL)	440	670	22%
Limoneno (45%) + Acetato de Linalina (40%) + Linalol (15%) + Clorofila ($95 \cdot 10^{-3}$ mg/mL)	411	670	58%

É possível observar, quando se compara o limiar de absorção total do OE de bergamota com o dos seus componentes, que ele se encontra em um valor de comprimento de onda superior, representando um forte efeito batocrômico. Uma vez que os componentes principais deste óleo são terpenos e terpenóides com diferentes funções orgânicas (hidrocarbonetos, ácidos carboxílicos e álcoois), é possível que existam interações intermoleculares fortes no estado fundamental. No entanto, este efeito batocrômico muito pronunciado pode também estar associado com algum componente minoritário, visto que o principal componente do óleo é apolar (limoneno).

Uma vez que o OE de bergamota apresenta uma forte absorção na região de 420-440 nm, a cor azul-violeta é absorvida e gera uma solução de coloração amarelada. Já a absorção óptica dos seus componentes fica compreendida na região do UV e estas amostras apresentam um aspecto incolor e transparente.

Outra coisa que chama atenção no espectro de absorção do OE de bergamota é o pico de absorção de menor intensidade na região de ~670 nm. Como já discutido previamente, este pico de absorção é característico da clorofila e reforça as suspeitas da presença destes pigmentos nesta amostra de OE.

Além disso, também é possível constatar que a absorção na região de 550 nm, onde todos os componentes possuem uma emissão intensa de PL, embora seja pequena (valores de transmitância próximos a 100%) para os componentes individuais, ela é um pouco mais acentuada para o OE de bergamota, o que pode explicar a menor não-deteção destes picos no espectro de PL do óleo.

Levando em consideração o espectro de PL e de Abs-UV/Vis com picos característicos da clorofila, o forte efeito batocrômico apresentado, sua absorção mais pronunciada na região de 550 nm e sua alta intensidade de emissão de PL em comparação aos seus componentes principais, existem fortes indicativos do efeito de FRET nesta amostra envolvendo componentes minoritários (pigmentos de clorofila contaminantes).

A mistura limoneno (61%) + acetato de linalina (39%) apresentou um leve efeito batocrômico. No entanto, sua absorção na região de 550 nm continuou baixa.

A mistura limoneno (80%) + linalol (20%), por sua vez, apresentou características muito semelhantes às do espectro de Abs-UV/Vis do limoneno isolado.

Já a mistura acetato de linalina (60%) + linalol (40%) mostrou um efeito batocrômico mais pronunciado. Este efeito de interação intermolecular no estado fundamental para estas moléculas faz sentido quando consideramos seus caracteres mais polares devido as suas funções orgânicas (éster e álcool).

Quando avaliamos a mistura limoneno (45%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%), vemos um efeito batocrômico ainda mais pronunciado que as misturas anteriores, indicando que este sistema apresenta fortes interações intermoleculares mesmo no seu estado fundamental. No entanto, o valor do limiar de absorção total para esta mistura entre os principais componentes do OE de bergamota ainda é muito inferior aquele observado para o OE de bergamota.

Uma vez que clorofila é adicionada ao mesmo sistema citado anteriormente, o efeito batocrômico é elevado fortemente e as amostras com clorofila chegam a limiares de absorção totais próximos ao do OE de bergamota.

Enquanto o OE apresenta um limiar de absorção total de 420 nm, a amostra que apresenta apenas limoneno e clorofila (18.10^{-3} mg/mL) chega a um limiar de

355 nm, e as amostras contendo limoneno, acetato de linalina e linalol com 0,424 mg/mL e 95.10^{-3} mg/mL de clorofila atingem 440 nm e 411 nm, respectivamente.

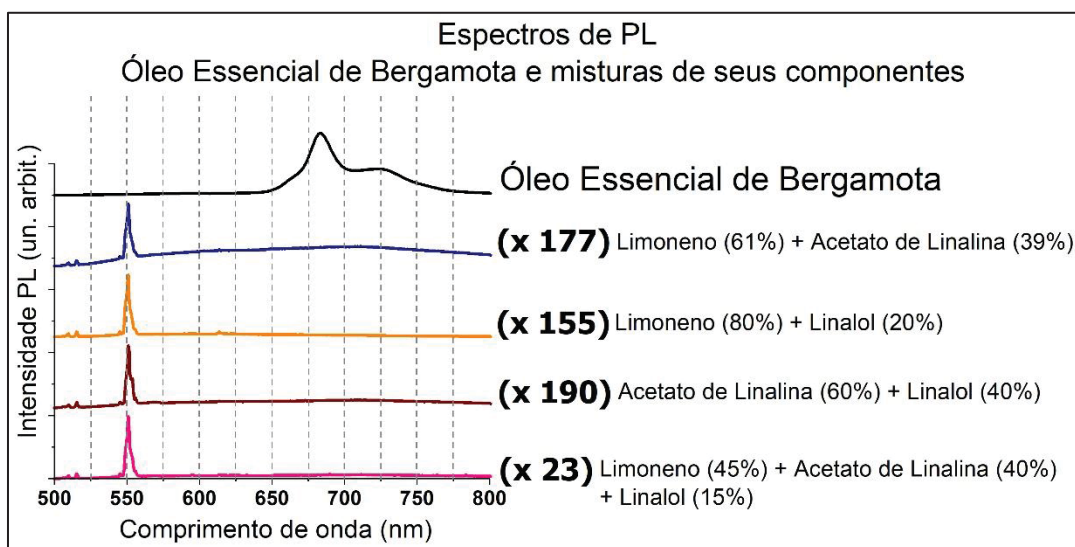
Estes fortes efeitos batocrômicos observados evidenciam que existem fortes interações intermoleculares no estado fundamental entre os componentes do OE de bergamota e também com os pigmentos de clorofila. Diferente do que foi observado para o OE de laranja amarga, o efeito batocrômico das amostras que possuíam acetato de linalina e linalol (além de limoneno) em contato com a clorofila dissolvida, mostraram efeitos batocrômicos mais pronunciados e mais próximos do que é observado no OE de bergamota, desta forma constata-se que a presença dos demais componentes do óleo afetam sua propriedade óptica de absorção.

Também é possível observar, através da pequena transmitância na região de 550 nm de algumas das amostras contendo clorofila, que estas amostras possuem um grande potencial para o fenômeno de FRET, uma vez que todos os componentes do OE analisados emitem nesta faixa.

6.10.4.1 Fotoluminescência – Misturas de componentes

A Figura 51 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de bergamota e de misturas entre seus componentes limoneno, acetato de linalina e linalol.

Figura 51 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota e misturas entre os seus componentes limoneno, acetato de linalina e linalol. $\lambda_{Exc} = 474 \text{ nm}$.



A mistura limoneno (61%) + acetato de linalina (39%) havia apresentado um pequeno efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis, indicando algumas interações no estado fundamental. Seu espectro de PL, no entanto, se mostra muito divergente do OE de bergamota em formato e intensidade.

A mistura limoneno (80%) + linalol (20%), a qual não apresentou nenhum efeito expressivo no seu espectro de Abs-UV/Vis, também não apresentou nenhum indício de interações no estado excitado, uma vez que seu espectro de PL é muito semelhante com o espectro dos seus componentes isolados (vide Figura 50).

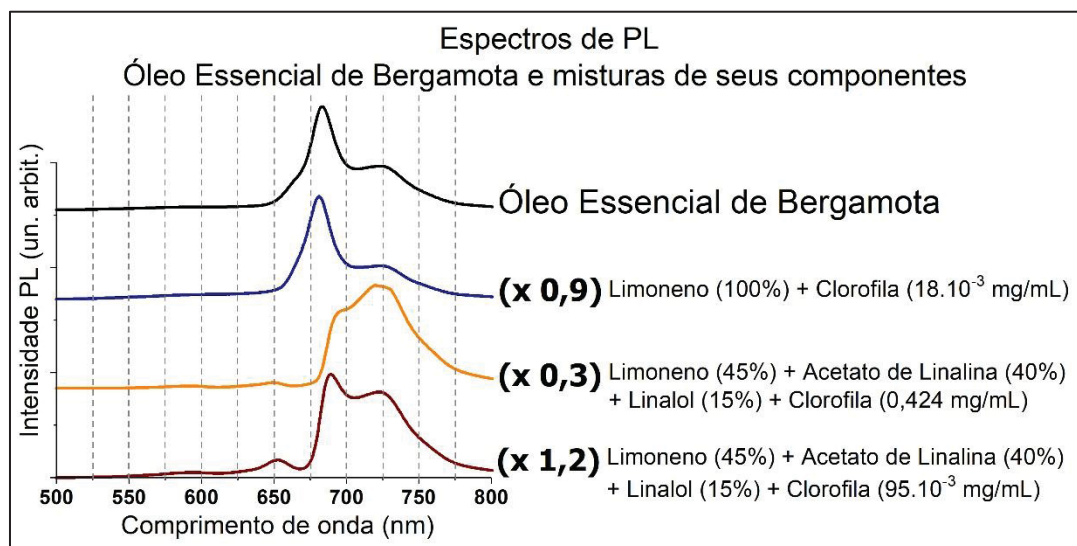
A mistura de acetato de linalina (60%) + linalol (40%) apresentou no seu espectro de Abs-UV/Vis um efeito batocrômico, no entanto seu espectro de PL também não apresentou indícios de interações no estado excitado, uma vez este espectro se assemelha com o espectro dos componentes isolados (vide Figura 50).

A mistura entre 3 componentes limoneno 45(%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%), apresentou um efeito batocrômico mais pronunciado no seu espectro de Abs-UV/Vis quando comparado com as amostras anteriores. Uma vez que o sistema

analisado anteriormente composto por limoneno e linalol não apresentou sinais de interações no estado fundamental, é provável que este efeito observado seja decorrente das interações entre o acetato de linalina e os demais componentes. Além disso, seu espectro de PL, o qual não apresenta grandes alterações de formato em relação aos componentes isolados, apresentou um aumento de uma ordem de grandeza na intensidade de emissão do seu pico estreito em 550 nm (vide Figura 50). Isto indica que também existem interações no estado excitado para esta mistura.

A Figura 52 mostra a comparação entre os espectros de PL do OE de bergamota e de misturas entre seus principais componentes (limoneno, acetato de linalina e linalol) com clorofila dissolvida.

Figura 52 – Comparação entre os espectros de fotoluminescência do óleo essencial de bergamota e misturas entre seus principais componentes (limoneno, acetato de linalina e linalol) com clorofila dissolvida. $\lambda_{Exc} = 474$ nm.



A amostra que apresenta apenas limoneno e clorofila dissolvida ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) apresentou um efeito batocrômico considerável no seu espectro de Abs-UV/Vis (355 nm), mas seu limiar de absorção ainda ficou abaixo daquele observado para o OE de bergamota (420 nm). No entanto, seu espectro de PL apresentou se assemelhou bastante àquele observado para o óleo, tanto em formato quanto em intensidade. Dessa forma, é possível observar que o espectro de PL do OE de bergamota está muito associado à interação entre seu principal componente, o limoneno, e a clorofila presente em solução.

A mistura limoneno (45%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%) + clorofila (0,424 mg/mL) apresentou um efeito batocrômico superior aquele observado

no OE de bergamota, e também mostrou um grande aumento de absorção na região de 550 nm. Desta forma, os picos estreitos de emissão em 550 nm foram suprimidos pelo efeito de FRET. O espectro de PL resultante apresenta uma intensidade de emissão global superior ao próprio OE de bergamota, e isto é muito expressivo uma vez que este OE possuía a intensidade global mais elevada entre todas as amostras medidas até este momento. Além da sua alta intensidade de emissão, quatro picos de emissão podem ser observados. O primeiro deles (com menor intensidade), em torno de ~590 nm, um segundo pico (também com pequena intensidade) em torno de ~650 nm, um terceiro (de intensidade relativa intermediária) em ~697 nm, e um último e mais intenso em ~720 nm. A comparação com o espectro de PL do OE de bergamota mostra que o último pico se encontra em uma posição similar, em torno de ~720 nm. No entanto, o pico presente na mistura em ~697 nm encontra-se muito deslocado da posição do pico em ~682 nm do óleo. Além disso, a ordem de intensidade para estes picos é diferente na mistura, onde o pico em ~720 nm se apresenta como o mais intenso, diferente do que ocorre no OE, onde o pico mais intenso se encontra em ~682 nm. Contudo, mesmo com as diferenças significativas de intensidade e de formato do espectro de PL desta mistura em relação ao OE de bergamota, temos nesta amostra, a qual foi adicionada clorofila, um espectro de PL mais próximo do óleo do que aqueles observados nas misturas que não contam com a presença de clorofila na sua composição. Mostrando que, assim como no OE de laranja amarga, a presença de clorofila no sistema apresenta fortes interações e causam grandes alterações nas suas propriedades ópticas.

A amostra limoneno (45%) + acetato de linalina (40%) + linalol (15%) + clorofila (0,424 mg/mL) mostrou no seu espectro de Abs-UV/Vis um efeito batocrômico muito próximo ao efeito visto no OE de bergamota. Seu espectro de PL também apresenta quatro picos de emissão. Os dois primeiros de menores intensidades em torno de ~590 e ~650 nm, respectivamente. O terceiro pico de emissão e mais intenso está localizado em ~689 nm, uma posição mais próxima ao pico de maior emissão do OE, em ~682 nm. E o quarto pico, de intensidade relativa intermediária, em torno ~720 nm, assim como visto no OE. Além disso, a intensidade global de emissão desta amostra é muito próxima aquela observada no OE de bergamota. Devido às semelhanças encontradas na intensidade e no formato do espectro de PL desta amostra com o óleo de bergamota, é possível constatar que a clorofila possui um papel crucial nas suas propriedades ópticas. Assim como o que foi constatado para o OE de

laranja amarga, a mudança na concentração de clorofila nas amostras ocasionou mudanças no espectro de absorção, na intensidade de PL e no formato da PL das misturas.

6.10.5 Considerações gerais

De maneira geral, observamos no OE de bergamota características ópticas completamente distintas daquelas dos seus principais componentes terpenos e terpenóides. O óleo apresenta um efeito batocrômico significativo no seu espectro de Abs-UV/Vis e picos de emissões intensos na região do vermelho.

Apesar das amostras contendo acetato de linalina apresentarem um efeito batocrômico em grau bem mais reduzido que aquele observado no OE de bergamota quando misturado com limoneno e linalol, os espectros de PL destas amostras continuam muito semelhantes, principalmente nos seus formatos, com seus componentes isolados. A mistura contendo limoneno, acetato de linalina e linalol apresentou um aumento na sua emissão estreita em 550 nm e um efeito batocrômico no seu espectro de Abs-UV/Vis, no entanto, nenhum dos seus espectros se assemelharam ao espectro do OE de bergamota. Assim como observado no OE de laranja amarga, a adição de clorofila no sistema foi a crucial para o aparecimento dos efeitos ópticos vistos no óleo. No entanto, o efeito batocrômico pronunciado no espectro de Abs-UV/Vis mostrou-se proveniente das interações entre a clorofila dissolvida e os componentes acetato de linalina e linalol, os quais estão presentes no OE em menores concentrações que o limoneno, mas são moléculas de caráter polar. Através desta combinação entre clorofila e componentes polares do OE de bergamota foi observado um aumento da absorção na região de 550 nm pelo sistema e, como consequência, o fenômeno de FRET.

Além do espectro de Abs-UV/Vis, foi possível observar na análise do OE de bergamota que a concentração de clorofila no sistema e as interações entre os demais componentes podem também afetar o espectro de PL, principalmente em relação ao seu formato. Neste contexto, a mistura que mais se aproximou do OE de bergamota na sua PL foi a solução de limoneno e clorofila ($18 \cdot 10^{-3}$ mg/mL). Desta forma, presume-se que o limoneno esteja presente na amostra de OE de bergamota em quantidades muito superiores aos demais componentes e que a intensidade de

emissão superior deste óleo em relação ao de laranja amarga se deva principalmente à uma maior concentração de clorofila.

7 CONCLUSÕES

As medidas de PL realizadas com as seis amostras de OEs (citronela, eucalipto citriodora, menta japonesa, botão de cravo, laranja amarga e bergamota) e alguns dos seus principais componentes, utilizando um comprimento de onda de excitação na faixa do azul (474 nm) revelaram que estes materiais possuem emissões luminescentes numa faixa extensa de 500 até 800 nm e a descrição de tais espectros são inéditos na literatura.

De maneira geral, o OE de bergamota se apresentou como o mais intenso, seguido pelo OE de laranja amarga, botão de cravo, citronela, eucalipto citriodora e menta japonesa. Com relação aos formatos dos espectros de PL, os OE de menta japonesa, eucalipto citriodora e citronela apresentaram semelhanças entre si, os óleos de laranja amarga e bergamota também se assemelham, enquanto o de botão de cravo se mostrou distinto dos demais.

Com relação à PL dos componentes isolados, foi constatado que todos os componentes possuem uma semelhança: picos estreitos de emissão na região de 550-555 nm. A existência destes picos semelhantes de emissão em terpenos, terpenóides e compostos aromáticos mostra que, apesar de representarem moléculas diferentes, suas emissões de PL geram picos parecidos. Tal constatação corrobora com os espectros de PL semelhantes dos OEs de eucalipto citriodora e menta japonesa, por exemplo, os quais possuem componentes majoritários distintos.

Diversos outros picos estreitos de intensidades intermediárias ou bem inferiores também foram observados nas moléculas analisadas. Os picos de menores intensidades podem ser observados nas regiões entre 500-510, 514-518 e 543-545 nm. Já os picos de intensidades intermediárias se encontram nas regiões de 448, 553 e 570 nm, na maioria das vezes muito próximos ao pico de maior intensidade em 550-555 nm.

Também foi constatado que os compostos isopulegol, citral, isomentona, eugenol e acetato de eugenila apresentaram a formação de excímeros. Para os componentes isomentona, citral, eugenol e acetato de eugenila seus excímeros apresentaram emissões largas com intensidade intermediária na região de 610-615 nm, enquanto que o isopulegol o qual apresentou uma emissão larga em ~588 nm de intensidade superior aos seus demais picos de emissão.

Com relação às intensidades de emissão relativas entre os diversos componentes, as medidas padronizadas revelaram que o pico em ~550 nm do componente citral representa o mais intenso dentre as amostras avaliadas. Logo em seguida, temos a emissão larga em ~588 nm do componente isopulegol e a emissão estreita em 555 nm do eugenol. Os demais componentes apresentam intensidades relativas muito semelhantes para suas principais emissões.

O espectro de Abs-UV/Vis das amostras de OEs em comparação com o dos seus respectivos componentes revelou que, em todos os OEs, estão presentes efeitos batocrômicos. Isto indica que todas as amostras analisadas possuem interações intermoleculares fortes mesmo no seu estado fundamental. Tal constatação está de acordo com as diversas observações de sinergismos entre os componentes de OEs responsáveis pelas suas propriedades biológicas potencializadas.

Para o OE de citronela, um efeito batocrômico foi observado em sistemas contendo geraniol e citronelol, indicando que as interações fortes no estado fundamental entre esses dois álcoois são cruciais para a existência do efeito batocrômico observado no óleo de citronela.

Para o OE de eucalipto citriodora, o efeito batocrômico não foi observado em nenhuma das misturas entre seus componentes majoritários, ou seja, as interações fortes no estado fundamental deste óleo estão associadas com componentes minoritários.

Com relação ao OE de menta japonesa, um efeito batocrômico pequeno (muito inferior ao observado no óleo) foi constatado apenas para o sistema isomentona-isopulegol; dessa forma, as interações fortes no estado fundamental deste óleo estão associadas com outros componentes que não foram avaliados neste trabalho.

No OE de botão de cravo, efeitos batocrômicos foram observados (em menor grau do que no óleo) nos sistemas que continham seu principal componente, o eugenol, com os demais componentes majoritários (acetato de eugenila e cariofileno), com isso, constata-se que as fortes interações do estado fundamental são ditadas pelas interações do eugenol com os demais componentes minoritários.

Para ambos os óleos cítricos, laranja amarga e bergamota, o efeito batocrômico pronunciado observado nas amostras de OE foram atribuídos à presença de clorofila nestes sistemas e suas interações com componentes minoritários de caráter polar.

De maneira geral, os espectros de PL das amostras de OEs estudadas apresentavam emissões mais intensas e com formatos diferentes do que as de seus componentes. Tais características são resultados de interações no estado excitado e/ou do fenômeno de FRET nestes sistemas.

Para o OE de citronela, são constatadas interações no estado excitado para o excímero do citral com os demais componentes avaliados (citronelal, citronelol, geraniol e isopulegol). Tais interações intensificam a emissão larga do excímero do citral e não são vistas no estado fundamental (Abs-UV/Vis), exceto para o caso do isopulegol. No caso desta amostra, uma mistura entre seus quatro principais componentes (citronelal, citronelol, geraniol e citral) pode fornecer um espectro de PL muito semelhante ao do OE em intensidade e formato. O componente isopulegol, neste sistema, apresentou interações muito fortes com o citral no estado fundamental (evidenciadas por um efeito batocrômico) e fortes interações no estado excitado com todos os componentes avaliados para o OE de citronela. No geral, a presença do isopulegol, mesmo em pequenas quantidades, causam grandes alterações no espectro de PL dos componentes do OE de citronela e tais alterações distorcem o formato do espectro do sistema de forma a se distanciar do formato observado no óleo.

Para o OE de eucalipto citriodora, existem fortes interações no estado excitado entre os componentes citronelal e citronelol com o excímero do isopulegol. Uma mistura entre estes três componentes (citronelal, citronelol e isopulegol), os quais são majoritários neste tipo de OE, podem gerar um espectro de PL muito semelhante ao OE de eucalipto citriodora em intensidade e formato.

No OE de menta japonesa, as interações no estado excitado se devem aos componentes mentol e isopulegol. O mentol, principal componente desse óleo, apresentou fortes interações com o excímero do isopulegol mesmo para pequenas quantidades deste outro componente, aumentando sua intensidade. No espectro de PL deste OE também é possível observar a contribuição do excímero da isomentona, no entanto, este componente não apresentou interações fortes com os demais no estado excitado. Portanto, com uma mistura entre mentol, isomentona e isopulegol, é possível obter um espectro de PL muito semelhante, em intensidade e formato, ao observado no OE de menta japonesa.

O OE de botão de cravo apresenta uma única emissão larga de alta intensidade. Esta emissão é resultado de dois fenômenos. O primeiro deles é a FRET,

resultante das fortes interações no estado fundamental (efeito batocrômico) entre os componentes deste óleo, as quais causam um aumento na absorção deste material na região de 550-555 nm. Desta forma, a energia das emissões estreitas e intensas dos componentes isolados nesta faixa é transferida para a emissão mais larga em maiores comprimentos de onda. O segundo fenômeno observado são as interações no estado excitado dos excímeros do eugenol e do acetato de eugenila com o cariofileno e, possivelmente, com os demais componentes minoritários. Desta forma, um espectro de PL muito semelhante ao do OE de botão de cravo pode ser obtido com a mistura dos seus três principais componentes: eugenol, acetato de eugenila e cariofileno.

Nos óleos cítricos (laranja amarga e bergamota), o espectro de PL é função, principalmente, da presença de clorofila nestes sistemas e suas interações com o limoneno (principal componente). A adição destes pigmentos gera fortes interações entre eles e os demais componentes no estado fundamental e, semelhante ao OE de botão de cravo, cria um forte efeito batocrômico responsável pelo aumento da absorção na região de 550 nm, onde existe uma banda de emissão dos componentes isolados. Desta forma, o fenômeno de FRET causa um grande aumento nas emissões da clorofila na região do vermelho. Além disso, variações na concentração de clorofila e a polaridade dos componentes minoritários alteram o espectro de PL destes sistemas.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

A literatura apresenta as seguintes potenciais aplicações para a PL dos OEs:

- Detecção destes materiais em diferentes matrizes;
- Uso para diagnóstico por imagem;
- Ferramenta de compreensão das interações (sinergismos) entre os diferentes componentes com intuito de investigar suas atividades biológicas;
- Uso no controle de qualidade de OEs.

A utilização da PL para a detecção dos OEs em diferentes matrizes já é bem consolidada, uma vez que estes compostos são, de fato, fluorescentes. No entanto, para que tal utilização seja feita de maneira eficiente, é desejável que o sistema analisado possua uma alta intensidade de emissão e que a técnica de detecção não deteriore o produto analisado. Este estudo mostra que o uso do comprimento de onda na região do azul pode fornecer a luminescência com uma diminuição dos efeitos de deterioração. Além disso, temos que componentes que apresentem a formação de excímeros, como no caso do citral, isopulegol, isomentona, eugenol e acetato de eugenila, podem ter sua intensidade de emissão aumentada consideravelmente pelas interações com outras moléculas polares no estado excitado. Também é constatado que sistemas com moléculas que forneçam fortes interações no estado fundamental podem ocasionar o fenômeno de FRET e intensificar ainda mais suas emissões. Os principais exemplos de sistemas com alta intensidade de emissão encontrados foram: citral e isopulegol, eugenol e acetato de eugenila e terpenos/terpenóides com clorofila dissolvida.

Com relação ao uso dos OEs no diagnóstico por imagem, também é desejado que o sistema apresente uma alta intensidade de emissão, mas muitas vezes almeja-se uma sensibilidade do espectro ao meio. Conforme foi visto, diversos sistemas apresentaram muito sensíveis a presença de outros componentes. Como exemplo disso tivemos os OEs de citronela e menta japonesa com relação à presença de isopulegol, a qual gerou diferenças significativas nos seus espectros de PL (em intensidade e formato), e também a adição de clorofila nos óleos cítricos. Ainda neste contexto, podemos constatar que a aplicação buscada por Momin *et al.* (2012) de utilizar a PL dos OEs presentes na casca de frutos cítricos para o diagnóstico por imagem destes produtos é extremamente dependente da interação entre o óleo e os demais pigmentos nesta matriz vegetal.

No que diz respeito ao estudo entre as interações intermoleculares dos componentes presentes nos OEs, tendo em vista a compreensão das suas atividades biológicas, conclui-se que as medidas de Abs-UV/Vis são muito eficientes para avaliações de interações no estado fundamental. Os espectros de Abs-UV/Vis apontam a presença de efeitos batocrômicos ou hipsocrômicos entre os componentes e a comparação com o espectro do respectivo OE pode ser usada para identificar quais compostos apresentam fortes interações. Portanto, a metodologia de investigação apresentada neste trabalho, a qual consiste na elaboração de misturas entre os componentes dos OEs e avaliação das suas propriedades ópticas de Abs-UV/Vis, pode ser usada na investigação dos mecanismos de ação biológica dos OEs.

As constatações de efeitos de solvente específico observadas neste trabalho podem ser interessantes para o uso da PL de OEs em aplicações de controle de qualidade. Caso alguma substância chave para a qualidade de um OE apresente fortes interações no estado excitado, seu espectro de PL pode revelar sua presença/ausência de maneira eficaz.

REFERÊNCIAS

- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; SANDHU, K. S. Thermal degradation kinetics of carotenoids and visual color of papaya puree. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 7, p. 2692–2695, 2002.
- ALMA, M. H.; ERTAŞ, M.; NITZ, S.; KOLLMANNNSBERGER, H. Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). **BioResources**, v. 2, n. 2, p. 265–269, 2007.
- APRAJ, V.; THAKUR, N.; BHAGWAT, A. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle PEEL. **Pharmacognosy Journal**, 2011.
- ARAÚJO, L. A.; ARAÚJO, R. G. M.; GOMES, F. O. Physicochemical/photophysical characterization and angiogenic properties of *Curcuma longa* essential oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2016. scielo.
- BÄCKTORP, C.; WASS, J. R. T. J.; PANAS, I. Theoretical investigation of linalool oxidation. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 44, p. 12204–12212, 2006.
- BAIN & COMPANY; GAS ENERGY. Potencial de diversificação da indústria química brasileira - Relatório 4: Aromas, sabores e fragrâncias. **BNDES**, 2014. Rio de Janeiro.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, 2008.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, 2009.
- BOSCHI, F.; FONTANELLA, M.; CALDERAN, L.; SBARBATI, A. Luminescence and fluorescence of essential oils. Fluorescence imaging in vivo of wild chamomile oil. **European journal of histochemistry : EJH**, 2011.
- BOUGHENDJIOUA, H. Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* (L.). **International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences**, v. 1, n. 3, p. 26–28, 2018.
- CASTRO, N. E. A.; CARVALHO, G. J.; CARDOSO, M. G. Avaliação de rendimento e dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 1, p. 70–75, 2008.
- CHAGAS, J. H.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 297–303, 2013.
- CHAIIB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. **Phytotherapy Research**, 2007.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Metodos Cromatograficos**. 1995.

CORDELLA, C.; MOUSSA, I.; MARTEL, A. C.; SBIRRAZZOULI, N.; LIZZANI-CUVELIER, L. Recent developments in food characterization and adulteration detection: Technique-oriented perspectives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2002.

COSTA, R.; DUGO, P.; NAVARRA, M. Study on the chemical composition variability of some processed bergamot (*Citrus bergamia*) essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 1, p. 4–12, 2010.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química nova**, v. 16, n. 3, p. 224–228, 1993.

DAWIDOWICZ, A. L.; OLSZOWY, M. Does antioxidant properties of the main component of essential oil reflect its antioxidant properties? The comparison of antioxidant properties of essential oils and their main components. **Natural Product Research**, v. 28, n. 22, p. 1952–1963, 2014.

DO, T. K. T.; HADJI-MINAGLOU, F.; ANTONIOTTI, S.; FERNANDEZ, X. Authenticity of essential oils. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, 2015.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. **Phytotherapy Research**, 2007.

ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.; VALDEZ-FRAGOSO, A.; TORRES, J. A.; WELTI-CHANES, J. Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and comminuted orange. **Journal of Functional Foods**, v. 6, n. 1, p. 470–481, 2014.

ESTANISLAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PEÑA, A. P. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95–100, 2001.

FEUDJIO, W. M.; GHALILA, H.; NSANGO, M. Fluorescence Spectroscopy Combined with Chemometrics for the Investigation of the Adulteration of Essential Oils. **Food Analytical Methods**, 2017.

FEUDJIO, W. M.; GHALILA, H.; NSANGO, M.; MBESSE KONGBONGA, Y. G.; MAJDI, Y. Excitation-emission matrix fluorescence coupled to chemometrics for the exploration of essential oils. **Talanta**, 2014.

FRANZIOS, G.; MIROTSOU, M.; HATZIAPOSTOLOU, E. Insecticidal and Genotoxic Activities of Mint Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2690–2694, 1997.

GALZERANO, D. Electronic properties of carotenoids in natural and artificial photosynthesis. , 2014.

GANJEWALA, D. Cymbopogon essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, 2009.

GBENOU, J. D.; AHOUNOU, J. F.; AKAKPO, H. B. Phytochemical composition of Cymbopogon citratus and Eucalyptus citriodora essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 2, p. 1127–1134, 2013.

GIVAUDAN. Givaudan - Flavours and fragrances that engage your senses. Disponível em: <<https://www.givaudan.com/>>. Acesso em: 27/10/2019.

HAMILTON, R. J.; KALU, C.; PRISK, E.; PADLEY, F. B.; PIERCE, H. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 193–199, 1997.

IBD CERTIFICAÇÕES. Certificações Orgânicas. Disponível em: <<https://www.ibd.com.br/>>. Acesso em: 27/10/2019.

IPEK, E.; ZEYTIÑOGLU, H.; OKAY, S. Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 551–556, 2005.

KIM, W.; NOWAK-KRÓL, A.; HONG, Y.; et al. Solvent-Modulated Charge-Transfer Resonance Enhancement in the Excimer State of a Bay-Substituted Perylene Bisimide Cyclophane. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 10, n. 8, p. 1919–1927, 2019.

KLEINEGRIS, D. M. M.; VAN ES, M. A.; JANSSEN, M.; BRANDENBURG, W. A.; WIJFFELS, R. H. Carotenoid fluorescence in Dunaliella salina. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 5, p. 645–649, 2010.

KOKETSU, M.; MAGALHAES, M. T.; WILBERG, V. C.; DONALISIO, M. G. R. Óleos essenciais de frutos cítricos cultivados no Brasil. **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 1983. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1983.

KUNG, M. L.; LIN, P. Y.; HSIEH, C. W. Bifunctional peppermint oil nanoparticles for antibacterial activity and fluorescence imaging. ACS Sustainable Chemistry and Engineering. **Anais...**, 2014.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. 2006.

LARSON, L. J.; SHIN, K.-S. K.; ZINK, J. I. Photoluminescence Spectroscopy of Natural Resins and Organic Binding Media of Paintings. **Journal of the American Institute for Conservation**, 1991.

LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. **Food Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 443–448, 2001.

LORENZO, D.; DELLACASSA, E.; ATTI-SERAFINI, L. Composition and stereoanalysis of Cymbopogon winterianus Jowitt oil from Southern Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, 2000.

LUCCHESI, M. E.; CHEMAT, F.; SMADJA, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A**, 2004.

MACHADO, F. L. D. C.; CAJAZEIRA, J. P.; DA COSTA, J. M. C. Color change and quality response of “lane late” orange submitted to degreening process. **Engenharia Agricola**, v. 35, n. 1, p. 144–153, 2015.

MARRIOTT, P. J.; SHELLIE, R.; CORNWELL, C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. **Journal of Chromatography A**, 2001.

MARTINS, G. D. S. O.; ZAGO, H. B.; COSTA, A. V.; ARAUJO JUNIOR, L. M. DE; CARVALHO, J. R. DE. Chemical composition and toxicity of citrus essential oils on *dysmicoccus brevipes* (hemiptera: pseudococcidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 811–817, 2017.

MOMIN, M. A.; KONDO, N.; KURAMOTO, M. Investigation of excitation wavelength for fluorescence emission of citrus peels based on UV-VIS spectra. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, 2012.

MONDELLO, L.; VERZERA, A.; PREVITI, P. Multidimensional Capillary GC-GC for the Analysis of Complex Samples. 5. Enantiomeric Distribution of Monoterpene Hydrocarbons, Monoterpene Alcohols, and **Multidimensional Capillary GC-GC for the Analysis of Complex Samples. 5. Enantiomeric Distribution of Monoterpene Hydrocarbons, Monoterpene Alcohols, and ...**, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf980228u>>. .

N. MANIKA. Effect of season on yield and composition of the essential oil of *Eucalyptus citriodora* Hook. leaf grown in sub-tropical conditions of North India. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 14, 2012.

NABIHA, B.; ABDEL FATTEH, E. O.; FATEN, K.; HERVÉ, C.; MONCEF, C. M. Chemical Composition of Bergamot (*Citrus Bergamia* Risso) Essential Oil Obtained by Hydrodistillation. **Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 4, n. 29, p. 60–62, 2010.

NAVARRA, M.; MANNUCCI, C.; DELBÒ, M.; CALAPAI, G. Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. **Frontiers in Pharmacology**, 2015.

OCHOCKA, R. J.; MARZEC, A.; LAMPARCZYK, H. Fluorescence enhancement of two terpenes commonly present in essential oils. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 1992.

OJEDA-SANA, A. M.; VAN BAREN, C. M.; ELECHOSA, M. A.; JUÁREZ, M. A.; MORENO, S. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 189–195, 2013.

PIRES, T.; RIBEIRO, M. G.; MACHADO, A. Extração do R-(+)-limoneno a partir das cascas de laranja: avaliação e otimização da verduca dos processos de extração tradicionais. **Química Nova**, 2017.

PUDIL, F.; WIJAYA, H.; JANDA, V. Changes in Citrus hystrix oil during autooxidation. **Developments in Food Science**, v. 40, n. C, p. 707–718, 1998.

RĂILEANU, M.; TODAN, L.; VOICESCU, M.; CIUCULESCU, C.; MAGANU, M. A way for improving the stability of the essential oils in an environmental friendly formulation. **Materials Science and Engineering C**, 2013.

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; REZAEI, M. B. Chemical composition and antiaflatoxic activity of Carum carvi L., Thymus vulgaris and Citrus aurantifolia essential oils. **Food Control**, v. 20, n. 11, p. 1018–1024, 2009.

REMAUD, G.; DEBON, A. A.; MARTIN, Y. L.; MARTIN, G. G.; MARTIN, G. J. Authentication of Bitter Almond Oil and Cinnamon Oil: Application of the SNIF-NMR Method to Benzaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 10, p. 4042–4048, 1997.

REVERCHON, E.; MARRONE, C. Supercritical extraction of clove bud essential oil: Isolation and mathematical modeling. **Chemical Engineering Science**, 1997.

ROCHA, S. F. R.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3, n. 1, p. 73–78, 2000.

SAFAEI-GHOMI, J.; EBRAHIMABADI, A. H.; DJAFARI-BIDGOLI, Z.; BATOOLI, H. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1524–1528, 2009.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442–449, 2009.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S.; BIZZO, H. R. Analysis of uses of essential oils and terpenics/terpenoids compounds by pharmaceutical industry through USPTO granted patents. **Rev. Bras. Plant Med**, v. 10, n. 1, p. 8–15, 2008.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589–594, 2010.

SIMIC, A.; RANČIC, A.; SOKOVIC, M. D. Essential oil composition of *Cymbopogon winterianus* and *Carum carvi* and their antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 6, p. 437–441, 2008.

SINGH, A. K.; RAINA, V. K.; NAQVI, A. A. Essential oil composition and chemoarrays of menthol mint (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinvaud ex. Holmes) cultivars. **Flavour and Fragrance Journal**, 2005.

SKOOG, H. & C. **Principles of Instrumental Analysis (6ed) - Skoog, Holler & Crouch**. 2007.

STATISTICS - MARKET RESEARCH CONSULTING. **Essential Oil: Global Market Outlook (2017-2023)**. 2017.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. DO; HECKTHEUER, L. H. H. The Chlorophylls (As clorofilas). **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000300043&lng=pt&tlng=pt. .

SU, Y. C.; HO, C. L.; WANG, E. I. C. C.; CHANG, S. T. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four eucalypts. **Taiwan Journal of Forest Science**, v. 21, n. 1, p. 49–61, 2006.

TABATA, A.; MARTINS, M. R.; OLIVEIRA, J. B. B. Photoluminescence temperature dependence of doped parabolic quantum wells. *Physica Status Solidi (C) Current Topics in Solid State Physics*. **Anais...** . v. 4, p.369–371, 2007.

TAMULY, C.; BAROOAH, N.; LASKAR, M.; SARMA, R. J.; BARUAH, J. B. Fluorescence quenching and enhancement by H-bonding interactions in some nitrogen containing fluorophores. **Supramolecular Chemistry**, v. 18, n. 8, p. 605–613, 2006.

TERRAFLOAROMATERAPIA. Terraflor Aromaterapia - A Empresa. Disponível em: <https://terra-flor.com/>. Acesso em: 27/10/2019.

TOLBA, H.; MOGHRANI, H.; BENELMOUFFOK, A.; KELLOU, D.; MAACHI, R. Essential oil of Algerian Eucalyptus citriodora: Chemical composition, antifungal activity. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 25, n. 4, p. e128–e133, 2015.

TOMAINO, A.; CIMINO, F.; ZIMBALATTI, V. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, v. 89, n. 4, p. 549–554, 2005.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2013.

VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. A brief history of fluorescence and phosphorescence before the emergence of quantum theory. **Journal of Chemical Education**, 2011.

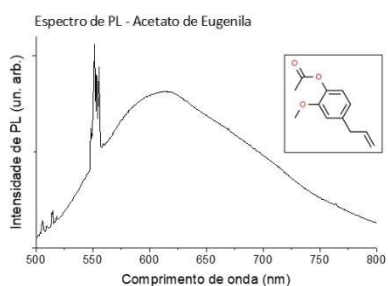
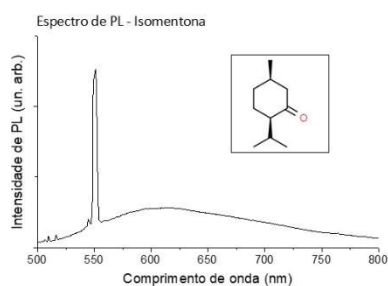
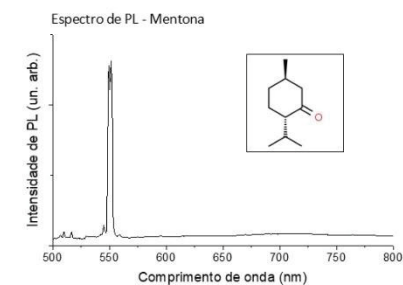
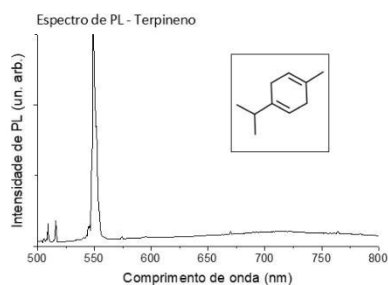
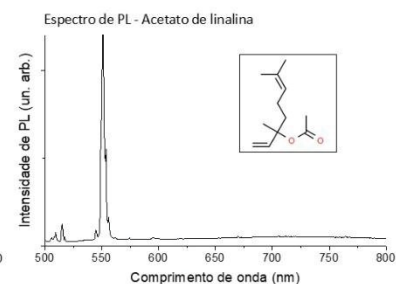
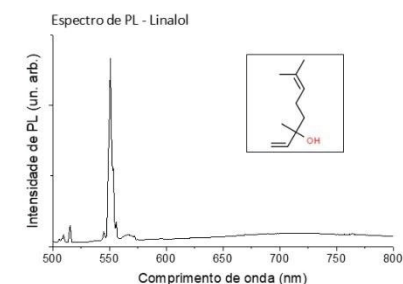
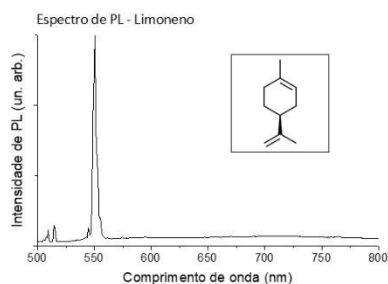
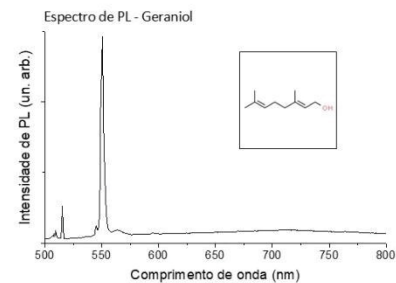
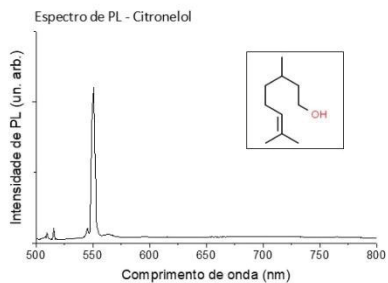
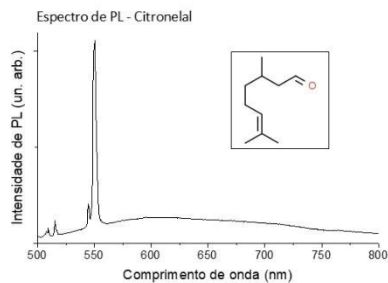
VERMA, R. S.; RAHMAN, L.; VERMA, R. K. Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon region of Western Himalaya. **Open Access Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 1, n. 1, p. 13–18, 2010.

WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; ZU, Y.; EFFERTH, T. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 2704–2713, 2012.

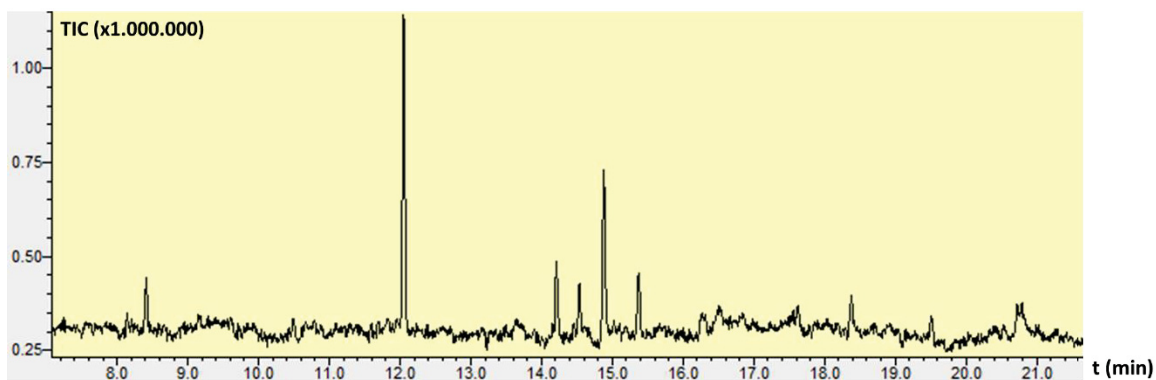
WANG, W.; WU, N.; ZU, Y. G.; FU, Y. J. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1019–1022, 2008.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; PINHEIRO, P. N. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L .) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira Planta Medicinai**s, v. 8, p. 76–86, 2006.

ANEXO 1 – ESPECTROS DE FOTOLUMINESCÊNCIA DE COMPONENTES DE ÓLEOS ESSENCIAIS ($\lambda_{\text{EXC}} = 474 \text{ nm}$)



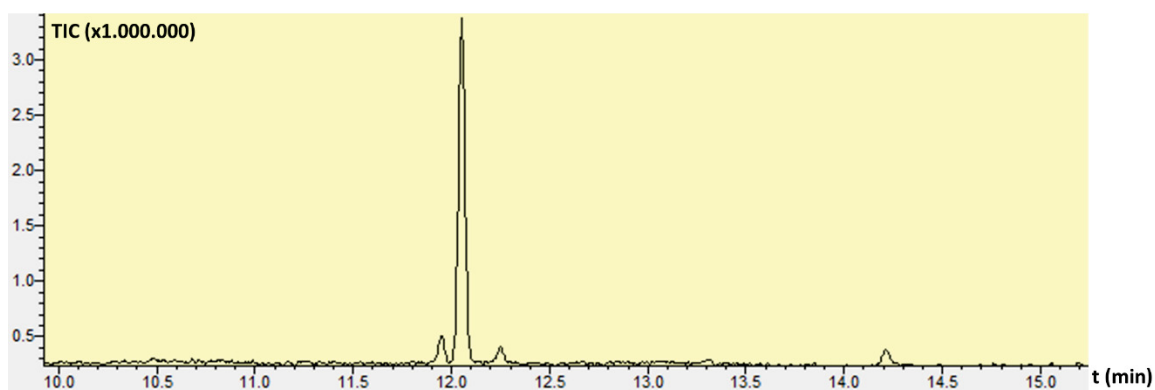
ANEXO 2 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
12,06	Citronelal	97
14,88	Geraniol	98
15,37 - 14,54	Citral	99
14,22	Citronelol	95
8,42	Limoneno	97
18,39	Acetato de geranila	96

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.

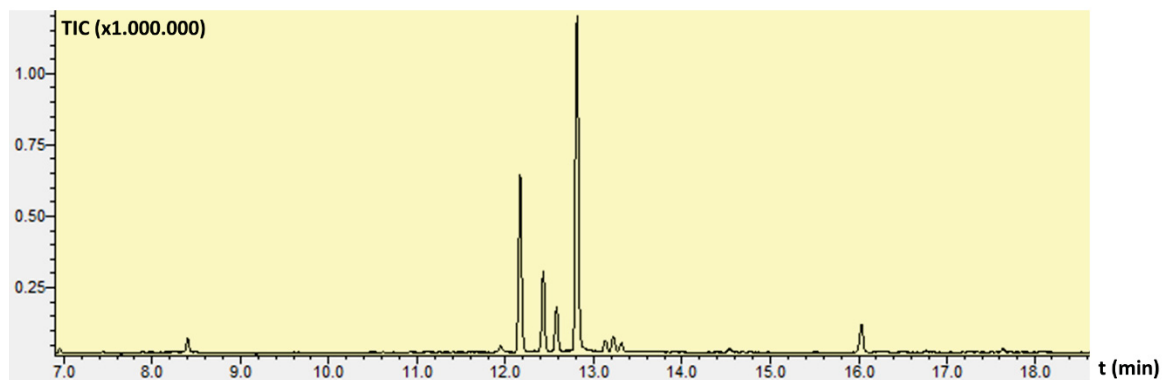
ANEXO 3 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO CITRIODORA



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
11,95 - 12,06 - 12,25	Citronelal	97
14,21	Citronelol	99

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.

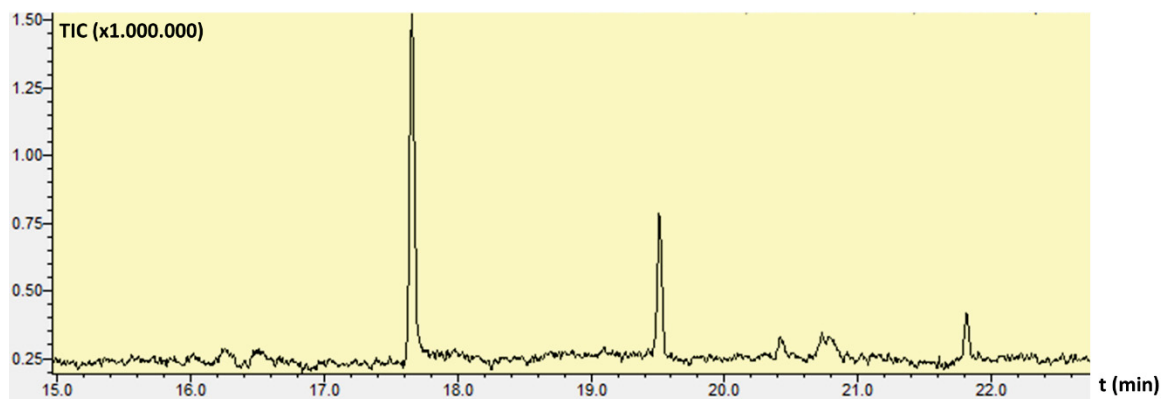
ANEXO 4 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE MENTA JAPONESA



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
12,58 - 12,81 - 13,14 - 13,32	Mentol	96
12,17 - 12,43	Isomentona	98
16,03	Acetato de mentila	95
8,41	Limoneno	99
13,32	Alfa-terpineol	95
11,95	Isopulegol	96
14,55	Pulegona	99

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.

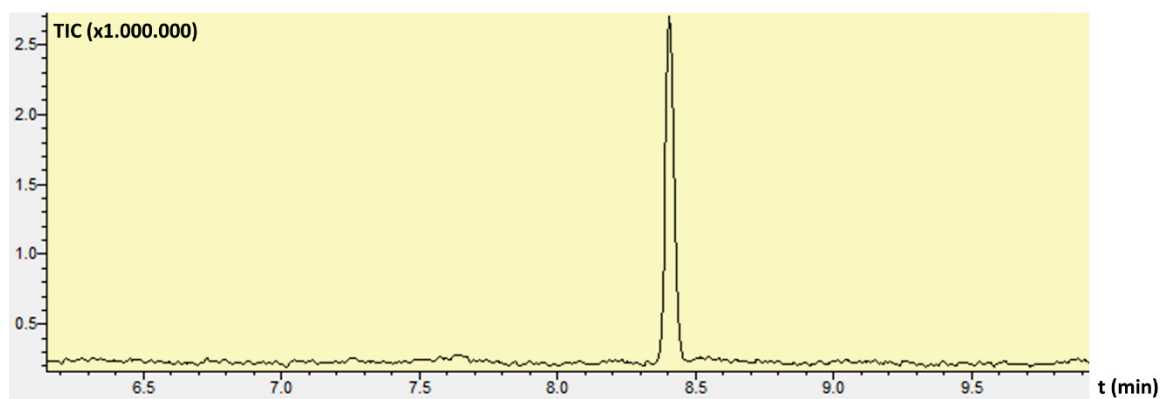
ANEXO 5 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE BOTÃO DE CRAVO



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
17,66 - 21,82	Eugenol	98
19,51	Cariofileno	97

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.

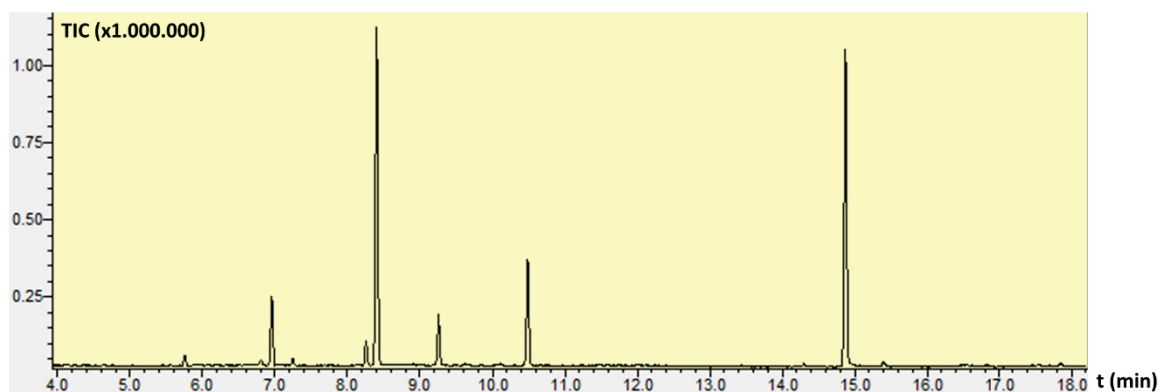
ANEXO 6 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA AMARGA



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
8,41	Limoneno	99

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.

ANEXO 7 – CROMATOGRAMA REFERENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE BERGAMOTA



LOCALIZAÇÃO DO PICO (MIN)	COMPONENTE	FATOR DE SIMILARIDADE (%)
8,4	Limoneno	98
14,88	Acetato linalina	95
10,49	Linalol	96
6,95	Beta-pineno	95
9,26	Gama-terpineno	95
8,26	O-cymene	97
5,75	Alfa-pineno	98
7,25	Beta-mirceno	97

*Obs: Os demais picos não-listados presentes no cromatograma são referentes a moléculas de sílica detectadas em função do processo de degradação da coluna cromatográfica.