

Resumo

O presente trabalho surge do reconhecimento das potencialidades naturais da flora portuguesa, particularmente rica em espécies aromáticas, e da necessidade de preservação e desenvolvimento dos espaços florestais. Acreditando que a melhor forma de o conseguir será promovendo a valorização destes recursos naturais, procurou-se, deste modo, obter extractos (óleo essencial) da espécie vegetal Esteva (*Cistus ladanifer* L.) e proceder à sua caracterização tendo como objectivo a identificação e quantificação, nestes, de compostos de elevado valor comercial.

Planta nativa e muito frequente em território nacional, a Esteva exsuda uma resina, designada por lábdano, que tem sido extraída quer por destilação quer por extracção com solventes em países como Espanha e França. Os produtos obtidos são particularmente apreciados pelo seu odor balsâmico, mas principalmente pelas excelentes propriedades fixativas que possuem.

Dos produtos sintetizados pelas plantas, os óleos essenciais estão entre os mais valiosos, encontrando grande aplicabilidade comercial, em particular pelas suas características odoríficas de que os compostos terpénicos oxigenados são os principais responsáveis. Deste modo, a identificação e quantificação nos extractos de Esteva da presença dos álcoois monoterpénicos linalol, borneol, α -terpineol, citrionelol e geraniol, dos acetatos de bornilo e geraniol e ainda do fenilpropanóide eugenol, representaram um dos principais objectivos do presente trabalho. Foram ainda incluídos neste conjunto de compostos de interesse o α -pineno e a 2,2,6-trimetilciclohexanona, identificados em diversos estudos como constituintes maioritários do óleo essencial de Esteva.

A complexidade apresentada pela generalidade dos óleos essenciais, formados por misturas de substâncias de classes químicas e pesos moleculares diversos, contribui para que a identificação e quantificação dos seus constituintes seja, por vezes, bastante difícil. O pré-fraccionamento das amostras, nomeadamente por cromatografia preparativa, antes da análise é uma prática comum. Tendo em atenção o excessivo tempo de análise que estes procedimentos implicam, procurou-se neste trabalho desenvolver e validar uma nova metodologia analítica por SPME/GC-FID, na qual se utilizou a microextracção em fase sólida (SPME) como única etapa de preparação das amostras. Estudaram-se as condições óptimas de extracção em headspace por SPME para os compostos em estudo. Factores com influência no processo extractivo como: o revestimento da fibra, a temperatura de extracção, a força iónica e o tempo de extracção foram avaliados. As fibras de polidimetilsiloxano (POMS) e de poliacrilato (PA) foram comparadas, tendo revelado esta última maior afinidade para os compostos estudados. Em consequência dos resultados obtidos foram adoptadas as seguintes condições analíticas: fibra de poliacrilato, tempo de extracção de 60 minutos, amostra a 40°C e teor de sal (NaCl) de 20% (m/v). Para a validação da metodologia analítica foram avaliadas a gama linear, os limites de detecção, a precisão e a exactidão do método, tendo este revelado uma boa linearidade na gama de concentrações estudada e elevada precisão.

Para a obtenção dos extractos/óleo essencial de Esteva foi utilizado o processo de destilação e extracção simultânea (SDE). Este pode ser considerado um processo combinado de extracção e

destilação, apresentando algumas vantagens sobre a utilização dos dois métodos em separado. Os parâmetros natureza do solvente e tempo de extracção foram estudados de modo a avaliar a sua influência na eficiência de extracção dos compostos objecto de estudo.

De acordo com os resultados obtidos na optimização do processo extractivo as melhores eficiências de extracção, com valores compreendidos entre 64,7 e 84,6%, foram observadas para o solvente pentano e para um tempo de extracção de 60 minutos. O processo de destilação e extracção simultânea (SDE) revelou ainda uma boa reprodutibilidade, com coeficientes de variação inferiores a 10%, e índices de recuperação próximos dos valores registados para as eficiências de extracção.

Por último, procedeu-se à extracção de amostras de Esteva, nas condições optimizadas, e os extractos obtidos foram analisados por SPME/GC-FID tendo sido identificados e quantificados o α - pineno, a 2,2,6-trimetilciclohexanona, o borneol e o acetato de bornilo nas concentrações médias de 393,4 mg/L, 108,5 mg/L, 52,3 mg/L e 68,6 mg/L respectivamente.

Abstract

The present work arises from the recognition of the Portuguese natural flora potentialities, particularly rich in aromatic species, and from the need of the preservation and development of the forest areas. Believing that the best way to achieve that goal is to, promote the value of these natural resources, it was tried to get and characterize extracts (essential oil) from the vegetal species rock-rose (*Cistus ladanifer* L.), aiming the identification and quantification of compounds with the high commercial value compounds. Being a native and abundant plant in national territory, rock-rose produces a resin called labdanum, which has been extracted either by distillation or solvent extraction in countries such as Spain and France. The yield products are particularly appreciated for its balsamic odour, but mainly due to its fixative properties.

The essential oils are some of the most valuable products obtained from plants. They are highly appreciated for their aromatic properties for which the terpenic oxygenated compounds are the main responsables. Thus, the identification and quantification in the rock-rose extracts of the presence of the monoterpenic alcohols linalool, borneol, α -terpineol, geraniol, citronellol, of the bornyl and geranyl acetates, and also the phenylpropanoid eugenol, were one of the main objectives of this work. The α - pinene and the 2,2,6-trimethylcyclohexanone have also been included in this group of compounds of interest as they are frequently referred as predominant components of the rock-rose essential oil. Most essential oils are complex mixtures of substances with different chemical classes and molecular weight, which make their identification and quantification sometimes rather difficult. Fractionation of essential oils before analysis, namely by preparative GC, is a common procedure. Instead of this tedious procedure, the current study intended to develop and validate a new methodology by SPME/GC-FID, where the solid-phase microextraction (SPME) was used as the unique step of sample preparation. In order to determine optimum extraction conditions such as the fiber coating, the

extraction temperature, the ionic strength and the extraction time, several essays were performed. Polidimethylsiloxane (PDMS) and polyacrilate (PA) fibers were compared being the latter the most efficient to extract the studied compounds. As a result, the following analytical conditions were adopted: PA fiber, 60 minutes extraction time, sample kept at 40°C and 20% (m/v) in salt content. For the validation of the analytical methodology, linearity range, detection limits, precision and accuracy were evaluated. The method showed a good linearity in the studied concentration range and high precision.

Simultaneous distillation extraction (SDE) technique was used to isolate the extracts/essential oils from rock-rose. Several essays were carried out in order to evaluate the influence of the nature of the solvent and the extraction time in the recovery of the compounds. According to the results in the optimization of the extractive process, the best efficiencies of extraction, with values from 64,7% to 84,6%, were observed when using the pentane solvent and for 60 minutes extraction time. The SDE process also showed good reproducibility, with coefficient variation below 10% and recoveries similar to the registered values for the extraction efficiencies.

Once concluded the extraction of samples of rock-rose, the obtained extracts were analysed by SPME/GC-FID being α -pinene, 2,2,6-trimethylcyclohexanone, borneol and bornyl acetate were detected with average concentrations of 393,4 mg/L, 108,5 mg/L, 52,3 mg/L and 68,6 mg/L respectively.