

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Gabrielle Cruz de Andrade

**Varição sazonal da composição química do óleo essencial das folhas de *Ocotea odorifera*
(Vell.) Rohwer**

Curitibanos, SC

2023

Gabrielle Cruz de Andrade

**Variação sazonal da composição química de óleo essencial das folhas de *Ocotea odorifera*
(Vell.) Rohwer**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Cristian Soldi.

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Callegari Scipioni.

Curitibanos, SC

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Cruz de Andrade, Gabrielle

Variação sazonal da composição química de óleo essencial de
Ocotea odorifera (Vell.) Rohwer / Gabrielle Cruz de Andrade ;
orientador, Cristian Soldi, coorientador, Marcelo Callegari
Scipioni, 2023.

55 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em
Engenharia Florestal, Curitibanos, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Óleo essencial. 3. Sassafrás. 4.
Safrol. I. Soldi, Cristian. II. Callegari Scipioni, Marcelo.
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Engenharia Florestal. IV. Título.

Gabrielle Cruz de Andrade

**Variação sazonal da composição química de óleo essencial de *Ocotea odorifera* (Vell.)
Rohwer**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia Florestal” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Florestal

Curitiba, 17 de novembro de 2023

Prof. Dr. Marcelo Bonazza
Coordenador (a) do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cristian Soldi
Orientador (a)
Instituição

Prof^a Amanda Koche Marcon
Avaliador (a)
Instituição

Prof^a Dra. Dilma Budziak
Avaliador (a)
Instituição

Este trabalho é dedicado a todos que me ajudaram e aos meus queridos pais.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudo.

Agradeço a todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho. A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado. Às pessoas com quem convivi ao longo da academia, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

“Nunca tive os olhos tão claros e o sorriso em tanta loucura. Sinto-me toda igual às
árvores: solitária, perfeita e pura” (Mireles, 1939).

RESUMO

A utilização dos óleos essenciais é mundialmente importante para as indústrias farmacêuticas, alimentícias, de perfumaria e outras. Os óleos essenciais são extraídos de plantas odoríferas, como por exemplo *Eucalyptus*, *Ocotea*, *Salvia*, podendo ser retirado tanto das folhas quanto da casca e destinados para uma gama variedade de usos. Algumas espécies odoríferas com importância econômica estão ameaçadas de extinção, como o caso da *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, árvore protegida por lei devido à exploração de um dos componentes do óleo essencial das folhas, o safrol, que tem grande interesse de mercado. Visando a conservação da espécie, há a necessidade de amplificar as pesquisas, não somente para fins comerciais como a extração do óleo essencial, mas também para entender o comportamento da espécie em diferentes ambientes. Com esse trabalho, objetivou-se avaliar a diferença da composição química do óleo essencial de *O. odorifera* no decorrer de um ano. Para alcançar os objetivos deste trabalho, foram coletadas amostras de folhas de 5 árvores na região de Rio do Sul, a cada 2 meses em período de um ano, para realizar a extração de óleo essencial pelo método de hidrodestilação. A caracterização dos componentes voláteis foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (CMGS) e os dados foram analisados em software Rstudio, a partir de métodos não paramétricos, como o teste de Friedman, Dunn e Fisher; e testes de correlação de Pearson, todos a 95% de confiança. Os componentes majoritários identificados foram o safrol, cânfora, linalol, 10-epi- γ -eudesmol, biciclogermacreno e spatulenol, sendo o safrol e a cânfora os componentes com maiores picos, com os percentuais variando entre 50,36 – 79,70 e 22,60 – 47,31, respectivamente. A partir das análises, a época do ano mais indicada para a exploração da espécie na obtenção do óleo essencial na região de estudo, foi inverno/primavera, por apresentar maiores áreas dos picos da maioria dos componentes identificados. Além disso, foram encontradas diferenças significativas na composição química do óleo essencial das folhas entre os indivíduos avaliados. Correlação de Pearson positiva ($R = 0,66$) foi encontrada entre o teor de safrol e a idade dos indivíduos. Os resultados encontrados indicam que, para o safrol, a exploração mais eficiente deve ser realizada no mês de janeiro e em árvores mais velhas.

Palavras-chave: Canela-sassafrás. Lauraceae. Safrol. Cânfora. Hidrodestilação.

ABSTRACT

The use of essential oils is globally important for the pharmaceutical, food, perfumery and other industries. Essential oils are extracted from odoriferous plants, such as Eucalyptus, Ocotea, Salvia, and can be removed from both the leaves and the bark and used for a wide range of uses. Some odoriferous species with built-in economic importance are threatened with extinction, such as the *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, a tree protected by law due to the exploitation of one of the components of the leaves' essential oil, safrole, which has great market interest. Aiming to conserve the species, there is a need to expand research, not only for commercial purposes such as the extraction of essential oil, but also to understand the behavior of the species in different environments. With this work, the objective is to evaluate the difference in the chemical composition of the essential oil over the course of a year. To achieve the objectives of this work, leaf samples were collected, every 2 months over a period of one year, from 5 trees in the Rio do Sul region to extract essential oil using the hydrodistillation method. The characterization of volatile components was carried out using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (CMGS) and the data were analyzed using Rstudio software, using non-parametric methods, such as the Friedman, Dunn and Fisher test. The majority components identified were safrole, camphor, linalool, 10-epi-y-eudesmol, biciclogermacrene and spatulenol, with safrole and camphor being the components with the highest peaks, with percentages varying between 50.36 – 79.70 and 22 .60 – 47.31, respectively. Based on the analyses, the most suitable time of year in the study region for exploring the species to obtain essential oil was winter/spring, as it presents larger peak areas for most of the identified components. Furthermore, significant differences were found in the chemical composition of the essential oil in the leaves between the individuals evaluated. A positive Pearson correlation ($R = 0.66$) was found between the safrole content and the age of the individuals, indicating that the results point to a more efficient exploitation in relation to safrole in January and in older trees.

Keywords: *Sassafras* Cinnamon. Lauraceae. Safrole. Camphor. Hydrodistillation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS	14
1.1.1	Objetivo Geral.....	14
1.1.2	Objetivos Específicos	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE	15
2.2	ÓLEO ESSENCIAL	17
2.3	SAFROL	20
2.3.1	Produtos derivados do Safrol	20
2.3.1.1	<i>Butóxido de Piperolina.....</i>	20
2.3.1.2	<i>Piperonal</i>	21
2.3.1.3	<i>3,4 – metilendioximetanfetamina.....</i>	21
2.4	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	22
2.4.1	Hidrodestilação	22
2.5	DENDROCRONOLOGIA	23
3	METODOLOGIA.....	24
3.1	CARACTERÍSTICAS DA REGIÃO DA ÁREA DE ESTUDO	24
3.1.1	Definição da região de estudo	25
3.2	COLETA DE DADOS	26
3.2.1	Propriedades dendrométricas (DAP e altura)	26
3.2.2	Estimativa de idade das árvores.....	26
3.2.3	Coleta das amostras foliares	28
3.3	ANÁLISES LABORATORIAIS	28
3.4	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	30
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	32

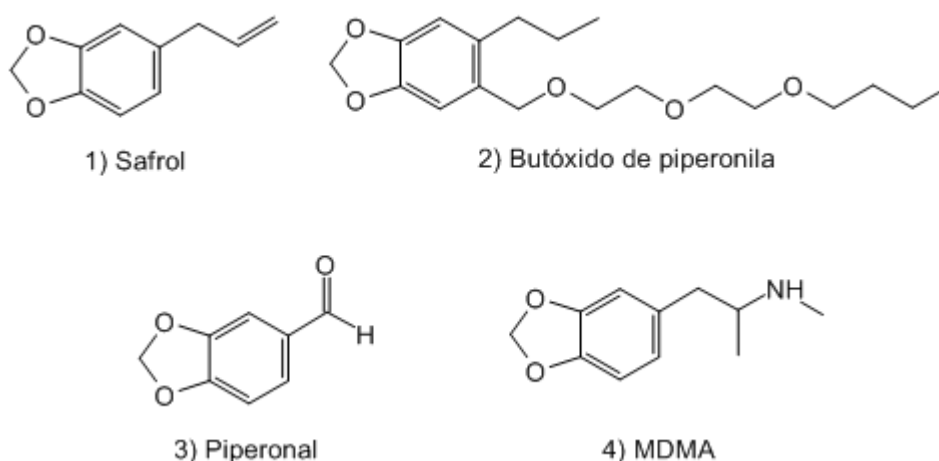
3.6	CORRELAÇÃO DE PEARSON.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	33
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL das folhas de <i>o. odorifera</i>	34
4.2.1	Variação dos componentes químicos durante o ano.....	38
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS ÁRVORES	40
5	CONCLUSÃO.....	45
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Conhecida popularmente como Sassafrás, a *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer pertence à família Lauraceae e se distribui desde a Bahia até o sul do país (CNCFlora, 2012). É considerada uma espécie arbórea de grande porte, podendo atingir 25 metros de altura e 75 cm de diâmetro, e suas folhas apresentam formato elíptica e obovada (BETT; MAY, 2017; KEIL; REISSMANN; NETTO, 2006). A espécie foi inserida na lista oficial das espécies brasileiras ameaçadas de extinção em 1992 através da portaria IBAMA nº6-N, de 15 de janeiro de 1992. Conseqüentemente, o corte da *O. odorifera* foi proibido desde então. Os motivos para a implementação desta portaria foram a sua exploração desenfreada e o desmatamento do bioma Mata Atlântica (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007).

A exploração da espécie aconteceu pela produção e acúmulo do safrol nas cascas, folhas e raízes da canela sassafrás. O safrol é um produto natural volátil pertencente à classe dos fenilpropanóides. Até o início da década de 90, o Brasil liderava a produção de safrol, componente majoritário do óleo essencial do sassafrás (EMBRAPA, 2008). O safrol (1) tinha importância comercial pois era utilizado em grandes quantidades, por exemplo, na síntese do inseticida butóxido de piperonila (2), do piperonal (3) para uso em fragrâncias e cosméticos, e da 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) (4), conhecida popularmente como ecstasy (COSTA, 2004; CREMASCO, COELHO e BRAGA, 2015; SILVA, 1987). As estruturas químicas destes componentes derivados do safrol com importância econômica são mostrados na figura 1.

Figura 1 – Estrutura química do safrol e seus derivados de importância econômica.



Fonte: O autor (2023).

O crescimento do mercado consumidor de óleo de madeira de sassafrás (safrol) e a proibição da derrubada das árvores nativas que ainda existem, ressaltam a importância crucial da preservação da espécie no contexto da biodiversidade brasileira. Isso também sublinha a urgência de realizar pesquisas voltadas para espécies florestais nativas, visando reverter a situação atual. Estes objetivos podem ser alcançados por meio de iniciativas como o reflorestamento e o uso sustentável que permita a exploração de *Ocotea odorifera* sem que haja o abate das árvores, ou seja, extrair o óleo essencial das folhas (KEIL, 2007).

De acordo com a FAO (2013), aproximadamente 1 bilhão de pessoas, principalmente em países em desenvolvimento, dependem dos Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNMs) para suas necessidades básicas de saúde e nutrição. Além disso, esses recursos contribuem para melhorar os meios de subsistência e promover a conservação das florestas, trazendo benefícios tanto ambientais quanto sociais, complementando a renda de agricultores familiares (ÁVILA, 2020).

Compreender a idade das árvores e as informações derivadas dos anéis de crescimento, pode-se testar a hipótese de que quanto mais velha a árvore, menor a quantidade de óleo essencial produzido e que o teor de safrol sofre variação ao longo do ano, conforme relatado por Keil em 2007.

Além de desempenhar um papel fundamental na gestão florestal eficiente, podendo contribuir significativamente para a otimização da utilização dos recursos florestais, sendo possível através da dendrocronologia (BOTOSSO e DE MATTOS, 2002; COELHO, 2011).

Neste sentido, este trabalho relata as alterações na composição química de óleos essenciais extraídos das folhas de *O. odorifera* coletadas em diferentes períodos dentro de um ano. Além disso, são discutidas as diferenças na composição química dos óleos essenciais de cada indivíduo junto com suas propriedades, envolvendo o Diâmetro na Altura do Peito (DAP), altura e idade.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliação da composição química do óleo essencial das folhas de *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer e suas variações em relação aos diferentes meses do ano e entre indivíduos.

1.1.2 Objetivos Específicos

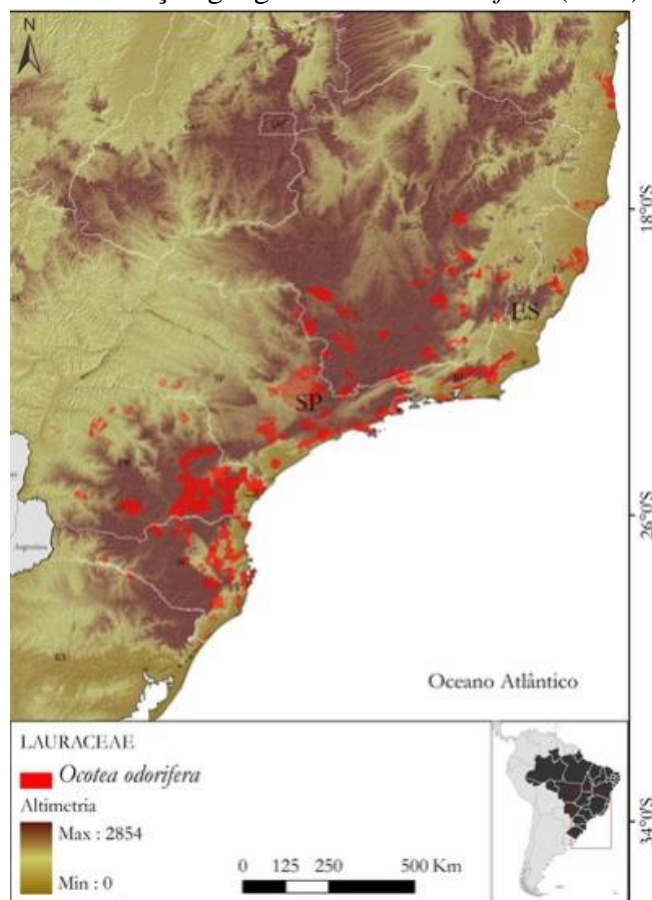
- Determinar as características dendrométricas das árvores utilizadas no trabalho.
- Comparar a composição química entre meses, do óleo essencial de árvores de *O. odorifera* extraído por hidrodestilação, para avaliar a melhor época do ano para a extração.
- Comparar a composição química e rendimento entre indivíduos, do óleo essencial de árvores amostradas.
- Analisar os componentes voláteis dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CGMS).
- Avaliar a relação do rendimento e da composição química do óleo essencial com a idade das árvores amostradas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

Pertencente à família Lauraceae, a *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, é uma espécie arbórea popularmente conhecida como canela-sassafrás, sassafrás, canela de cheiro, canela-cheirosa, canela-funcho, canela-parda (CETNARSKI FILHO; NOGUEIRA, 2005; ROQUE; DIONETE, 2002; REIS, 2019). É distribuída geograficamente desde os Estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, até o sul do país com maior concentração, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo o Estado do Paraná o mais representativo (BETT; MAY, 2017; REIS, 2019), com preferência por temperaturas entre 16,2 e 23,6°C (CARVALHO,2005; REIS, 2019; REIS et al., 2019).

Figura 2 – Distribuição geográfica de *O. odorifera* (Vell.) Rohwer.



Fonte: CNCFlora (2012).

A *Ocotea odorifera* se desenvolve no bioma Mata Atlântica, onde por volta das décadas de 40 e 70 quase entrou em extinção pela sua intensa exploração, com a intenção de extrair o seu óleo essencial. A exportação do óleo essencial de sassafrás foi de extrema importância para o Estado de Santa Catarina, devido ao safrol, servindo como fonte de renda, principalmente no Alto Vale do Itajaí, atraindo o interesse de indústrias farmacêuticas, alimentares e agroquímicas (MILANESI; BRACK, 2019; SANTA-CATARINA; MACIEL; PEDROTTI, 2001).

Árvore de grande porte, o Sassafrás pode atingir 25 metros (m) de altura e de 50 a 75 centímetros (cm) de diâmetro, suas folhas variam de 7 a 14 cm de comprimento, com formato elíptica e obovada (BETT; MAY, 2017; KEIL; REISSMANN; NETTO, 2006).

Esta espécie é considerada heliófita (depende de luz intensa para se desenvolver, são plantas que atingem o nível superior das copas), perenifólia e aromática (BETT; MAY, 2017). Suas flores são pequenas e hermafroditas com coloração branco-amarelada (BETT; MAY, 2017).

Figura 3 – A: aspecto geral da planta; B: flores hermafroditas de *O. odorifera*.

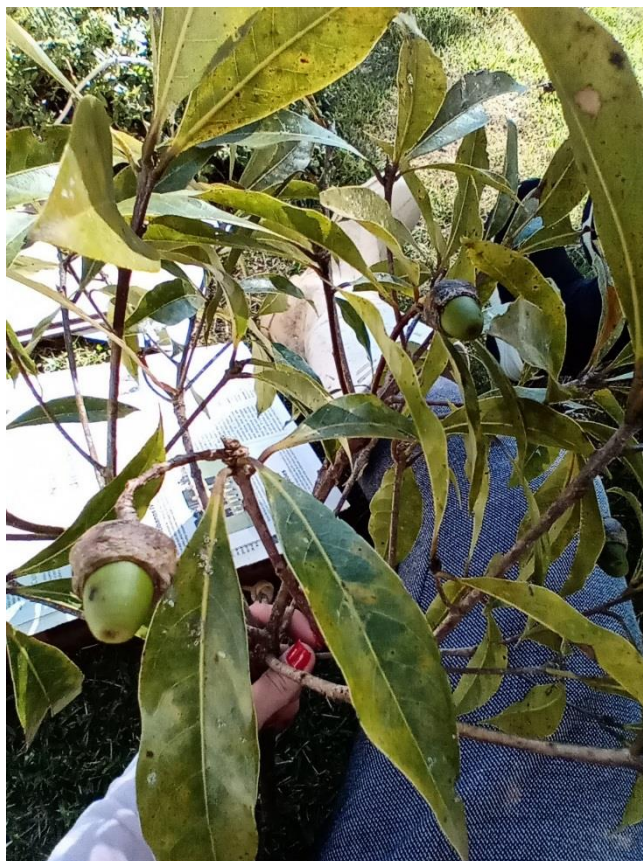


Fonte: Keil (2007); Baitello (2014).

Segundo Cetnarski Filho; Nogueira (2005), a frutificação da espécie ocorre em anos alternados e em poucas quantidades, pois os frutos caem precocemente devido ao longo período de maturação, se tornando maduros cerca de 360 dias após a floração. O processo de reprodução

das plantas se inicia por volta dos 20 anos de idade e após atingir o seu ponto maduro da semente, a mesma começa a sofrer ataques por fungos e insetos (MORTIZ *et al.*, 2009).

Figura 4 – Folhas e frutos de *O. odorifera*, do município de Rio do Sul – SC.



Fonte: O autor (2023).

Outros fatores que podem condenar a espécie são o desaparecimento dos polinizadores, a produção irregular de sementes e também, o alto teor de óleo na semente, provocando a sua oxidação e deterioração do embrião, justificando a sua baixa taxa de germinação (MILANESI, 2008).

2.2 ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais são substâncias voláteis que podem ser encontradas nas plantas, normalmente possuindo um aroma e fragrância distintos. Eles constituem combinações intrincadas de terpenos, terpenos com oxigênio, sesquiterpenos e sesquiterpenos com oxigênio. Dependendo da planta aromática, esses óleos essenciais também podem conter pequenas quantidades de diterpenos e outros elementos (SERAFINI *et al.*, 2001).

A presença de óleos voláteis nas Gimnospermas e Angiospermas monocotiledôneas é uma ocorrência rara. No entanto, nas Angiospermas dicotiledôneas, encontramos uma abundância de famílias que são conhecidas por conter óleos voláteis em suas estruturas (RAGGI, 2008). Destacam-se entre elas a Lauraceae, Piperaceae, Rutaceae, Asteraceae, Rosaceae, Pinaceae, Apiaceae, Myristicaceae, Lamiaceae e Myrtaceae (RAGGI, 2008).

Esses óleos voláteis podem ser encontrados em estruturas especializadas, como células parenquimáticas diferenciadas (como é o caso de Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae e Poaceae), em tricomas glandulares (observados em Lamiaceae) ou nos canais oleíferos (encontrados em Apiaceae e Asteraceae) (RAGGI, 2008). Além disso, esses óleos voláteis podem estar armazenados em diversos órgãos das plantas, como flores, folhas, cascas do caule, madeira, rizomas, frutos ou sementes (RAGGI, 2008).

Os óleos essenciais pertencem à categoria dos Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNM), que englobam produtos de origem vegetal provenientes de florestas que não são de natureza lenhosa. Exemplos desses produtos incluem resina, cipó, óleos, sementes, plantas ornamentais, plantas medicinais e outros. Os povos extrativistas fazem amplo uso desses produtos para diversas finalidades, e também são encontrados em ambientes urbanos, embora em menor frequência (EMBRAPA, 2012). Nestes contextos urbanos, os PFNM são comercializados em formas variadas, como alimentos, medicamentos, cosméticos, utensílios e mais, conforme relatado pela EMBRAPA (2012).

Entre os componentes do óleo essencial de *Ocotea odorifera* se encontra o safrol, a qual é comercializada mundialmente em vários ramos industriais, sendo utilizado no preparo de medicamentos com propriedades sudoríficas, diuréticas, antirreumáticas e como repelente de mosquitos e fixador em perfumes (CASSIAN *et al.*, 2010).

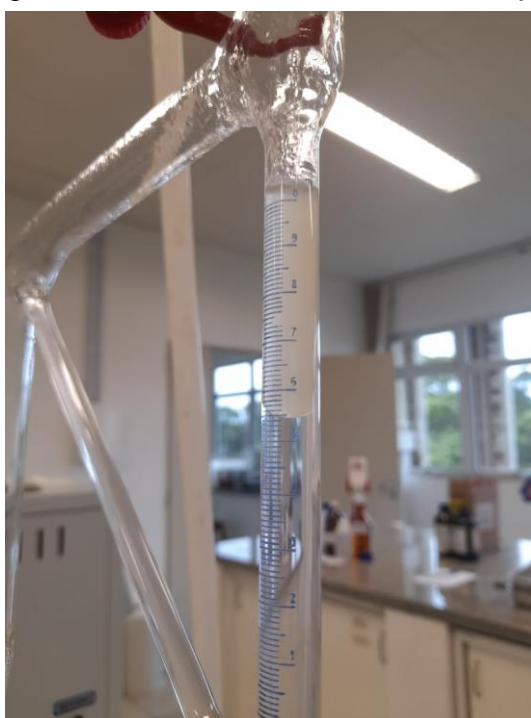
Em 1959, Otto R. Gottlieb e Mauro Taveira Magalhães descobriram que nem todos os indivíduos de *O. odorifera* produzem safrol, sendo dependente da distribuição geográfica. No Sul do país, onde estão as menores temperaturas, as árvores de sassafrás produzem safrol, o qual provoca o aroma característico (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1960). Ao contrário, os indivíduos encontrados nas regiões de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, que são regiões mais quentes, ao invés do safrol, apresentam 1-nitro-2-feniletano, sendo o responsável pelo cheiro característico da árvore. Por outro lado, os indivíduos de Sassafrás de outras regiões do Brasil, contém como componente majoritário o metileugenol (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1960; MAAR; ROSENBROCK, 2012; RIZZINI, 1971).

Segundo Souza *et al.* (2010) os óleos essenciais são terpenos, e alguns deles contribuem no desenvolvimento da planta sendo considerado um metabólito primário, e estes óleos apresentam diversas propriedades influenciadas pelo ambiente. Normalmente, os óleos essenciais são encontrados em tricomas glandulares agindo biologicamente na adaptação da planta ao meio (SOUZA *et al.*, 2010). Eles atuam na defesa do ataque de predadores, atraindo polinizadores, evitando a perda de água, atuando como regulador térmico e inibidor de germinação (SOUZA *et al.*, 2010).

Os óleos essenciais são compostos principalmente por hidrocarbonetos e oxigenados, como ésteres, álcoois, fenóis e outras substâncias com baixo peso molecular e tem capacidade de volatilizar (SOUZA *et al.*, 2010). Suas principais características são a fragrância e atividades antimicrobianas e antioxidantes, fazendo com que seja bastante utilizado nas indústrias farmacêuticas, de perfumaria, dentre outras (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais, embora sejam altamente voláteis e pouco solúveis em solventes, exibem a capacidade de inibir o crescimento de bactérias e fungos, mesmo em concentrações baixas. Essa eficácia é observada em óleos essenciais que são ricos em aldeídos, álcoois e fenóis, compostos que são conhecidos na literatura por sua capacidade de induzir efeitos citotóxicos em fungos e bactérias (MONTEIRO, 2015).

Figura 6 – Óleo essencial de *Ocotea odorifera*.



Fonte: O autor (2023).

2.3 SAFROL

O safrol é um produto natural volátil pertencente à classe dos fenilpropanóides, e em sua forma não adulterada, apresenta-se como um líquido viscoso com um odor semelhante ao da cânfora quando mantido à temperatura ambiente. Esse composto é empregado como matéria-prima na produção de inseticidas biodegradáveis, cosméticos e produtos farmacêuticos (MAIA *et al.*, 1987).

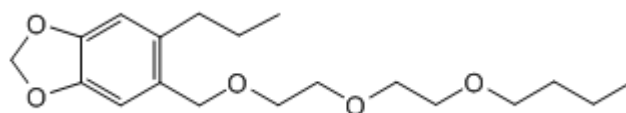
O safrol constitui a principal fração dos óleos essenciais obtidos a partir das folhas, tronco e galhos da planta *O. odorifera*. Estudos prévios que investigaram o óleo essencial dessa espécie revelaram teores de safrol variando de 10% a 78%. A concentração dos compostos voláteis está sujeita a diversos fatores, tais como as condições do solo e clima, o ambiente em que as plantas crescem, o método de extração empregado, a época do ano em que as amostras vegetais foram coletadas e a idade das próprias plantas (Passos *et al.*, 2022).

Após a proibição do uso de *O. odorifera*, buscou-se uma fonte alternativa de extração de safrol, que foi encontrada em uma planta popularmente conhecida como Pimenta Longa, a *Piper hispidinervum* C.DC é uma arvoreta com altura variando de 3 a 5 metros, pertencente à família Piperaceae, natural do estado do Acre (PIMENTEL *et al.*, 1998; NEGREIROS *et al.*, 2012; AMARAL, PACHECO e PEREIRA, 2000).

2.3.1 Produtos derivados do Safrol

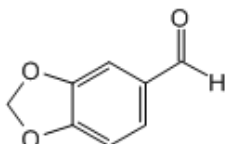
2.3.1.1 Butóxido de Piperolina

O butóxido de piperonila (PBO) é um agente sinérgico que atua na minimização da quantidade de inseticidas químicos para o combate de pragas agrícolas que desenvolveram resistência a organofosforados e piretroides. Sua ação consiste em inibir o metabolismo desses agentes pelo parasita (Beckel *et al.*, 2006).



2.3.1.2 Piperonal

O 3,4 – metilendioxibenzaldeído, popularmente conhecido como piperonal, é preparado facilmente pela isomerização da ligação dupla do safrol, seguida pela oxidação. Por consequência de sua fácil fabricação, é um produto barato comercialmente e muito utilizado pelas indústrias de cosméticos (ROSA, 2002).

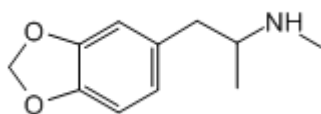


2.3.1.3 3,4 – metilendioximetanfetamina

A MDMA, originalmente conhecida como methylsafrylamin, foi inicialmente desenvolvida com a finalidade de servir como precursor na síntese de substâncias hemostáticas, e não como um supressor de apetite, como frequentemente mencionado na literatura médica (BERNSCHNEIDER-REIF, ÖXLER e FREUDENMANN, 2006).

Do ponto de vista químico, o ecstasy clássico é conhecido como 3,4-metilendioximetanfetamina ou, de maneira abreviada, MDMA, sendo o protótipo do grupo das substâncias chamadas anfetaminas alucinogênicas ou feniletilaminas. Sua estrutura é semelhante à da metanfetamina, uma substância com propriedades estimulantes simpatomiméticas. A diferença crucial reside na presença de um grupamento metilendioxi (–O–CH₂–O–) ligado ao anel aromático, o que confere ao MDMA propriedades psicomiméticas alucinogênicas semelhantes às da mescalina (SHULGIN, 1986; LORENZO-FERNÁNDEZ, BOBES-GARCÍA & COLADO-MEGÍA, 1998; SIMANTOV, 2004).

Porém, outros diversos trabalhos relatam que a MDMA não é o único composto ativo nos comprimidos de *ecstasy*, havendo outras diversas substâncias que são análogas ao 3,4-metilendioximetanfetamina (COLE e SUMNALL, 2003).



2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

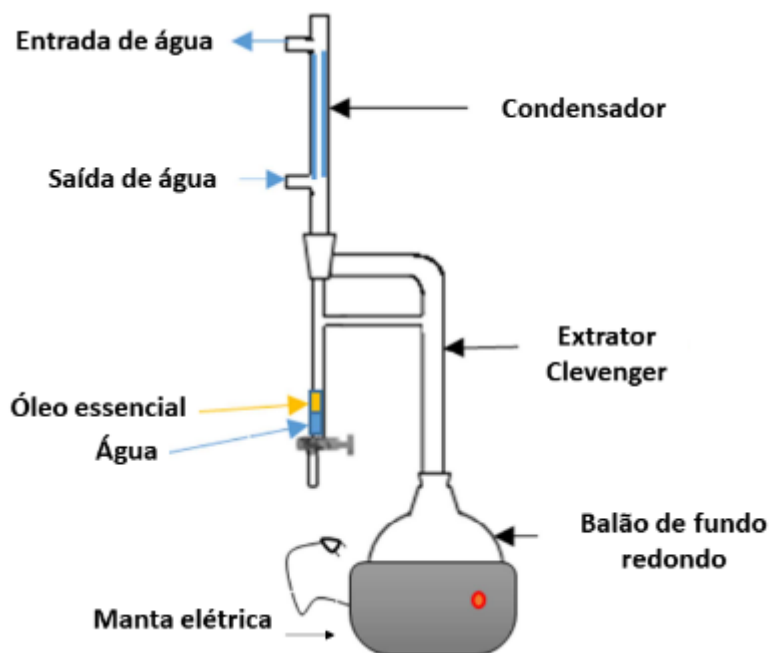
Os óleos essenciais são misturas de substâncias voláteis, lipofílicas (tem afinidade química com as gorduras), odoríferas, constituídos por moléculas terpênicas. À temperatura ambiente, eles exibem uma textura oleosa como característica principal, destacando-se por sua volatilidade. Isso os distingue dos óleos fixos, que consistem em misturas de substâncias lipídicas, frequentemente derivadas de sementes, como o óleo de rícino, a manteiga de cacau e o óleo de linhaça. Normalmente, eles se apresentam como líquidos incolores ou ligeiramente amarelados, com um sabor ácido e picante. São pouco estáveis quando expostos à luz, ao calor e ao ar, além de serem pouco solúveis em água (MORAIS, 2009).

Os métodos de extração de óleo essencial são a maceração, extração por solvente, enfleuragem, gases supercríticos, arraste a vapor e hidrodestilação (SANTOS *et al.*, 2004). O método de hidrodestilação foi utilizado na extração de óleo essencial das folhas de *O. odorifera* do presente trabalho.

2.4.1 Hidrodestilação

De acordo com Busato *et al.* (2014) na hidrodestilação, a planta aromática fica imersa ou flutuando na água fervente. Para realizar a hidrodestilação, o aparelho mais utilizado é o aparelho de Clevenger (figura 7), o qual é composto por um destilador, um condensador e um separador. No destilador se encontram as partículas da planta que estão imersas ou flutuando na água fervente, por outro lado, no condensador ocorre a fase de vaporização da água com o óleo, e logo em seguida vão para o separador, nos possibilitando visualizar com nitidez as duas fases, de água e óleo, através da densidade de cada um, uma vez que o óleo apresenta baixa densidade quando comparado com a água, e conseqüentemente, o óleo fica flutuando na superfície da água.

Figura 7 – Aparelho de Clevenger modificado.



Fonte: Rabeharitsara *et al.*, (2016).

2.5 DENDROCRONOLOGIA

A Dendrocronologia é uma ciência que se dedica à datação dos anéis de crescimento encontrados no lenho de árvores e peças de madeira, sendo utilizada não apenas para determinar a idade e a taxa de crescimento das árvores, mas também para analisar o impacto de variações ambientais e ecológicas na formação desses anéis. Essa disciplina interdisciplinar incorpora conhecimentos de diversas áreas, como anatomia, química, fisiologia, genética florestal, climatologia, hidrologia e estatística, entre outras. Além de contribuir para o conhecimento da vida das árvores, a Dendrocronologia desempenha um papel fundamental na análise de eventos ecológicos e ambientais passados, permitindo a identificação de condições climáticas, mudanças ambientais naturais, dinâmica de populações florestais, bem como avaliar o impacto de fenômenos como ventos, ataques de insetos, atividades vulcânicas e ações humanas (BOTOSSO e DE MATTOS, 2002; COELHO, 2011).

Os anéis de crescimento das árvores, encontrados nos troncos e registrados pelo seu tecido lenhoso, refletem as condições ambientais ao longo do tempo. Variações climáticas, como mudanças na temperatura e disponibilidade de água, influenciam diretamente a largura e características dos anéis (FISHER *et al.*, 2009). Em condições ideais, as árvores tendem a

formar anéis mais largos, indicando períodos de crescimento mais rápido, enquanto condições adversas resultam em anéis mais estreitos. Dessa forma, a análise dos anéis de crescimento, conhecida como dendrocronologia, proporciona percepções valiosas sobre padrões climáticos passados, eventos ambientais extremos e até mesmo atividades humanas que possam ter impactado o ambiente ao longo do tempo (AMATO, 1988; HAGEMEYER, 1993). Essa relação entre anéis de crescimento e variações ambientais é crucial para compreendermos as respostas das árvores às mudanças climáticas e seus efeitos no ecossistema (HAGEMEYER, 1993; WATMOUGH; 1999).

Outro fator de extrema importância, é o entendimento da idade das árvores e das informações obtidas a partir dos anéis de crescimento, pois promove uma gestão florestal eficaz, contribuindo para a otimização do uso dos recursos florestais. Para isso, é essencial o envolvimento de diferentes áreas de pesquisa florestal (BOTOSSO e DE MATTOS, 2002; COELHO, 2011). O estudo do passado das florestas fornece percepções valiosas sobre como usar, manejar e preservar esse recurso para o futuro, tornando-se uma ferramenta indispensável para a conservação e sustentabilidade das florestas (BOTOSSO e DE MATTOS, 2002; COELHO, 2011).

3 METODOLOGIA

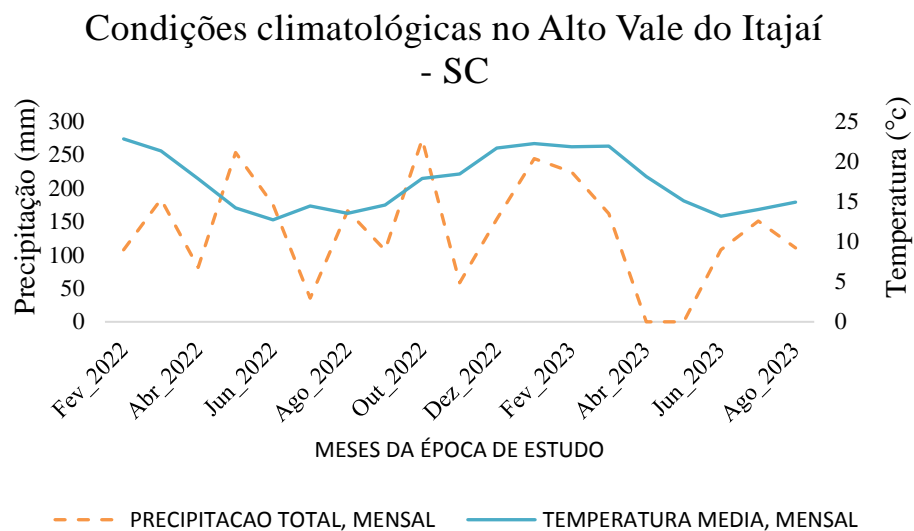
3.1 CARACTERÍSTICAS DA REGIÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo se localiza no município de Rio do Sul, estado de Santa Catarina, no Alto Vale do Itajaí. De acordo com a classificação de Köppen, a região tem clima temperado úmido com verão quente, classificado como Cfa (IBGE, 2010). Nas figuras 8 é possível observar a precipitação e temperatura da região, com dados coletados da estação automática A863 do município de Ituporanga – SC.

O município possui alta variabilidade geológica, tanto em relevo quanto em tipo de solo. O relevo acidentado predomina na região e em maior parte o solo apresenta baixa fertilidade natural, ou seja, o solo é incapaz de suprir as quantidades e proporções adequadas dos elementos essenciais às plantas (ALVES, 2004).

O solo apresenta eficiência para plantios como pastagens e reflorestamento, sendo mais limitado pela declividade do relevo, e devido ao manejo inadequado da terra, a erosão é provocada (ALVES, 2004).

Figura 8 – Avaliação da precipitação e temperatura na região de Rio do Sul – SC no período de um ano e seis meses.



Fonte: INMET (2023).

3.1.1 Definição da região de estudo

Foram selecionados os cinco indivíduos encontrados de *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer de uma propriedade particular no município de Rio do Sul, cujo os indivíduos foram identificados e marcados com tinta de cor vermelha, seguindo com a denominações de A, B, C, D e E.

Tabela 1 – Localização georreferenciada dos indivíduos de *O. odorifera*.

Árvore	Posição geográfica
A	634481.00 m E e 6999160.00 m S
B	634126.00 m E e 6999299.00 m S
C	634116.00 m E e 6999303.00 m S
D	634116.00 m E e 6999297.00 m S
E	634112.00 m E e 6999298.00 m S

Fonte: O autor (2023).

Os indivíduos B, C, D e E se concentram em um pequeno fragmento de floresta de aproximadamente 80m², distando cerca de 300 m da árvore A, que se encontrava isolada em uma área de pastagem.

Figura 9 - Mapa de localização dos indivíduos de *Ocotea odorifera*, no município de Rio do Sul – SC.



3.2 COLETA DE DADOS

3.2.1 Propriedades dendrométricas (DAP e altura)

Para a coleta de altura, CAP (circunferência na altura do peito) e estimativa da idade das árvores, foi utilizada metodologia descrita por Scipione *et al.* (2021).

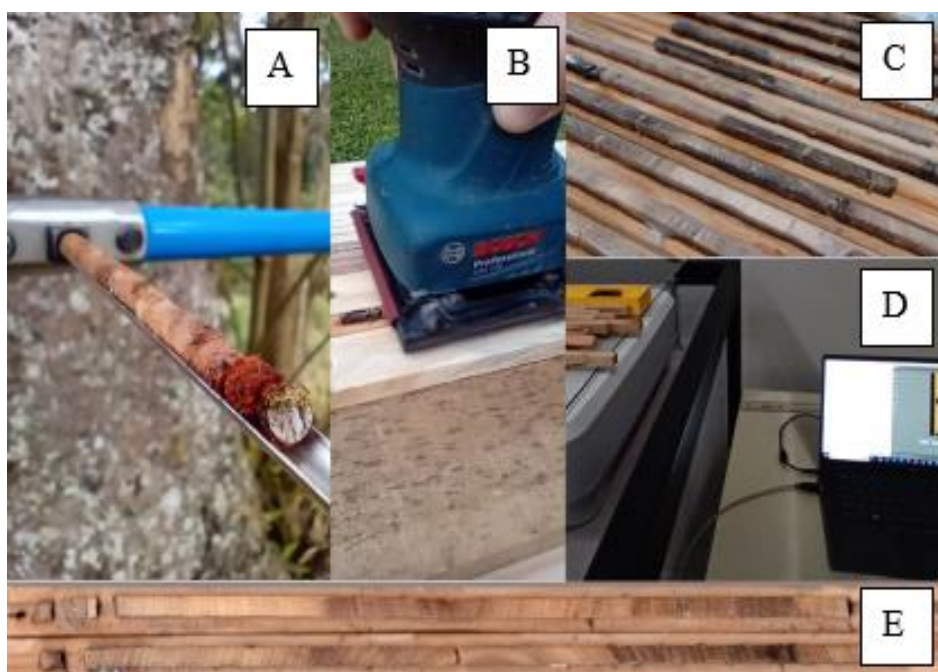
Para determinação da altura foram utilizados uma trena e um clinômetro, onde a partir de uma distância pré-definida para visualizar a árvore por completo, foi utilizado a trena para balizar a distância da árvore com o ponto de medição, e o clinômetro estimou a altura instantaneamente com base nas informações de distância e angulação da base até a copa. Para a medição do CAP foi utilizado uma fita métrica graduada em milímetros.

3.2.2 Estimativa de idade das árvores

A idade das árvores foi estimada através de um método considerado não destrutivo do indivíduo, utilizando um trado de incremento de 40 cm e 5 mm de diâmetro. As coletas de amostras de lenho foram realizadas a aproximadamente 1,30 m do solo, direcionado ao centro

do indivíduo buscando acertar a medula. Cada introdução do trado gera uma amostra, chamada de rolo de incremento, que tem formato cilíndrico e cerca de 5 mm de diâmetro e comprimento referente ao raio da árvore. De cada indivíduo foram extraídas duas amostras, sendo coletadas de direções distintas. Posteriormente essas amostras foram coladas em um suporte de madeira, para melhor manuseio e armazenagem. Em seguida tiveram uma face lixada partindo de uma lixa com gramatura de 60 até 600, com objetivo de expor nitidamente seus anéis de crescimento, para assim fazer sua contagem e estimativa de idade.

Figura 10 – Etapas das coletas das amostras para a estimativa de idade das árvores *O. odorifera*, onde A: coleta do rolo de incremento com um trado 40 cm; B: lixada das amostras com uma lixadeira elétrica; C: amostras prontas para serem escaneadas; D: escaneando as amostras; E: amostras escaneadas.



Fonte: O autor (2023).

Para auxiliar na contagem foi utilizado a lupa para fazer a mensuração dos anéis de crescimento, cujo processo apresentou dificuldades pois os anéis nem sempre eram muito visíveis. Utilizou-se também, um scanner Epson 11000XL com resolução de 1200 dpi e o software Cybis CooRecorder v.7.8.1 para registro e acurácia nos resultados (figura 11).

Figura 11 – Estimativa de idade através da mensuração pelo programa CooRecorder 7.8, demonstrando aproximadamente quantos anéis faltaram para acertar a medula.



Fonte: O autor (2023).

3.2.3 Coleta das amostras foliares

Com o auxílio de um podão foram coletadas aproximadamente 500 gramas de folhas dos 5 indivíduos. Para avaliação das alterações da composição química ao longo do ano, foram realizadas 7 coletas, de março de 2022 até março de 2023, intercalando a cada dois meses. Estas extrações foram realizadas em duplicata. Para avaliar possíveis diferenças na composição do óleo essencial entre cada indivíduo foram coletadas 500 gramas de folhas de cada árvore separadamente, em agosto de 2023, para realizar extrações de cada indivíduo. O material de cada indivíduo foi extraído em triplicata.

3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

Em laboratório, as folhas foram então picotadas manualmente utilizando tesoura de poda. Em seguida, 150g de folhas foram adicionadas em balões de fundo redondo de 2L junto com 1L de água destilada e submetidas à extração em aparato Clevenger modificado por 45 minutos. O óleo essencial obtido foi seco sob sulfato de sódio anidro, filtrado obtendo um líquido oleoso de cor levemente amarelada. Para todas as extrações houve separação de uma porção de óleo mais densa e outra menos densa que a água. As duas porções foram coletadas e misturadas para a determinação do rendimento e análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CGMS).

Para determinar a massa seca (MS), foram utilizadas 3 bandejas para pesar cerca de 10g das folhas de *O. odorifera*. As amostras foram transferidas para a estufa com circulação e renovação de ar com temperatura de 50°C por um período de 24h. A determinação da massa

seca ocorreu em triplicada de cada coleta. A determinação de massa seca ocorreu através da equação 1.

$$MS = ((mf\ B1+mf\ B2+mfB3)/3) / (mi\ B1+mi\ B2+miB3)/3)) * 100 \quad (1)$$

Onde:

MS = Índice de Massa Seca (%);

mi B1 = massa inicial das folhas frescas na Bandeja 1 (g);

mi B2 = massa inicial das folhas frescas na Bandeja 2 (g);

miB3 = massa inicial das folhas frescas na Bandeja 3 (g);

mf B1 = massa final das folhas após secagem na Bandeja 1 (g);

mf B2 = massa final das folhas após secagem na Bandeja 2 (g);

mfB3 = massa final das folhas após secagem na Bandeja 3 (g).

Para determinar o rendimento de óleo essencial, anteriormente foi realizada a determinação da massa das folhas em base seca (descartando a umidade das folhas). Para isso, foi aplicada a equação 2.

$$BS = (MS * mfe) / 100 \quad (2)$$

Onde:

BS = massa das folhas em base seca (g);

MS = índice de massa seca (%);

mfe = massa de folhas na extração.

Em seguida, a diferença da massa entre o Eppendorf vazio e o Eppendorf com óleo foi calculada, para determinar a massa de óleo essencial em gramas que foi extraído, a partir da equação 3.

$$Re = (BS/MO) * 100 \quad (3)$$

Onde:

Re = Rendimento de óleo essencial (g.100g de massa seca);

BS = massa das folhas em base seca (g);

MO = massa de óleo extraída (g).

Figura 12 – Etapas do processo de extração de óleo essencial, onde A: coleta das folhas com o auxílio de um podão; B: picagem das folhas; C: extração de óleo essencial no aparato de Clevenger modificado; D: volume de óleo essencial extraído; E: separação do óleo essencial da água com a pipeta de Pasteur; F: óleo essencial livre de água no Eppendorf.



Fonte: O autor (2023).

Para obter o rendimento de óleo essencial das folhas, aproximadamente 10g de folhas foram pesadas e mantidas em estufa a cerca de 50°C por 24 horas, após esse período, as folhas foram novamente pesadas e descartadas.

3.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Para a análise dos constituintes químicos do óleo essencial de *O. odorifera*, empregou-se o equipamento de cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GCMS, Agilent 7890A), localizado no Laboratório Multiusuário de Análise Instrumental (LAMAI) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos.

Para conduzir as análises, uma quantidade de 10µL do óleo essencial, juntamente com 50µL de solução (5 uL/mL em hexano) do padrão interno 1-heptanol, foram adicionados a 440 uL de hexano (grau HPLC). Em seguida, essa solução foi introduzida no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GCMS, Agilent 7890A), equipado com um injetor automático Combi Pal. Para a separação cromatográfica, empregou-se uma rampa de temperatura que variou de 40°C (com 2 minutos de espera nessa temperatura) até 260°C, com

uma taxa de aumento de temperatura de 8°C por minuto. O gás de arraste utilizado foi o hélio, com um fluxo de 1 mL por minuto, e a relação de divisão (split) foi de 25:1. O tempo total de cada análise foi de 29,5 minutos. As temperaturas do injetor e da interface foram configuradas para 300°C. O espectrômetro de massas operou a uma energia de 70 eV, realizando a varredura no intervalo de 40 a 400 m/z. A composição química dos óleos essenciais foi avaliada em duplicata para cada uma das extrações resultando em um total de 6 análises por coleta.

Para caracterizar os componentes, 25 picos foram selecionados manualmente usando o software G1701EA GC/MSD Chemstation. A identificação dos componentes químicos presentes nos óleos essenciais foi realizada utilizando duas estratégias, a saber: a) através da co-eluição com uma solução contendo uma mistura de 19 terpenos (Cannabis terpene mix A, SUPELCO); e b) através da comparação entre os espectros de massas, os índices de Kovats experimentais (KI_{exp}) e os índices de Kovats teóricos ($KI_{teóricos}$) previamente relatados em Adams (2007).

Para determinar o Índice de Kovats experimental (KI_{exp}), uma solução contendo uma série de n-alcenos (C7-32, Sigma Aldrich) a uma concentração de 1000 µg L⁻¹ foi injetada no GCMS sob as mesmas condições utilizadas para as amostras de óleo essencial. O Índice de Kovats experimental foi calculado de acordo com a equação 4.

$$IK_{exp} = ((t_rX - t_rN) / (t_rN_{+1} - t_rN)) + 100 * n \quad (4)$$

Onde:

IK_{exp} = Índice de Kovats Experimental;

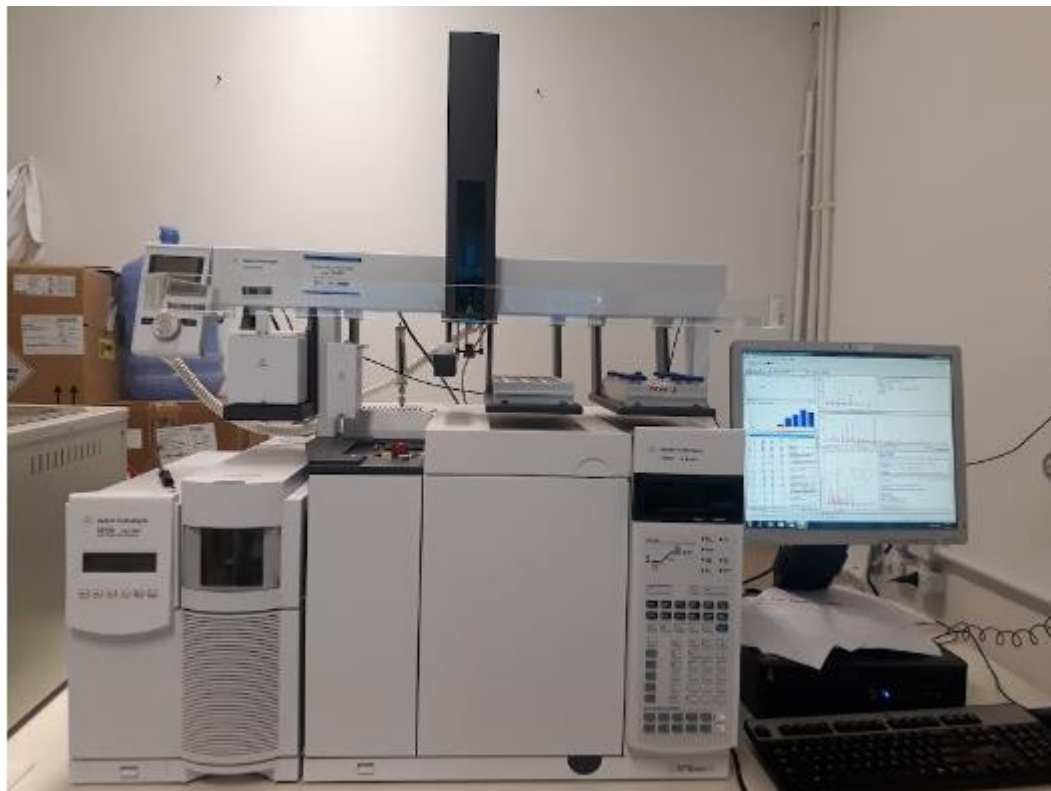
t_rX = tempo de retenção do componente X;

t_rN = tempo de retenção do alcano N com t_r anterior ao componente X;

t_rN_{+1} = tempo de retenção do alcano N com t_r posterior ao componente X;

n = número de átomos de carbono do alcano N.

Figura 13 – Cromatógrafo Gasoso Acoplado ao Espectrômetro de Massas (GCMS).



Fonte: Santos (2022).

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados para a variação sazonal dos componentes químicos foram comparados usando a área absoluta de cada pico obtida no CMGS. As comparações foram avaliadas para as extrações bimestrais, as quais são variáveis dependentes, utilizando o teste de Friedman e teste LSD de Fisher, usufruindo do pacote agricolae, para encontrar onde estavam as diferenças estatísticas.

Para a comparação dos componentes voláteis entre os indivíduos, foi utilizado o teste não paramétrico, uma vez que há somente 3 repetições para as análises no CGMS, contendo poucos pontos para se obter uma distribuição normal. Para isso, para verificar se há diferença entre os grupos, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis e posteriormente o teste de Dunn, cujo método é usual para variáveis independentes, nesse caso, os componentes químicos com as propriedades das árvores.

Para os resultados de rendimento de óleo essencial, inicialmente foi a homosticidade dos dados com o teste Levene Test, e então, com a distribuição normal destes (obtidos através

do teste Shapiro-Wilk), foi rodada a ANOVA com 95% de confiança. Todas as estatísticas do trabalho foram rodadas no software Rstudio.

3.6 CORRELAÇÃO DE PEARSON

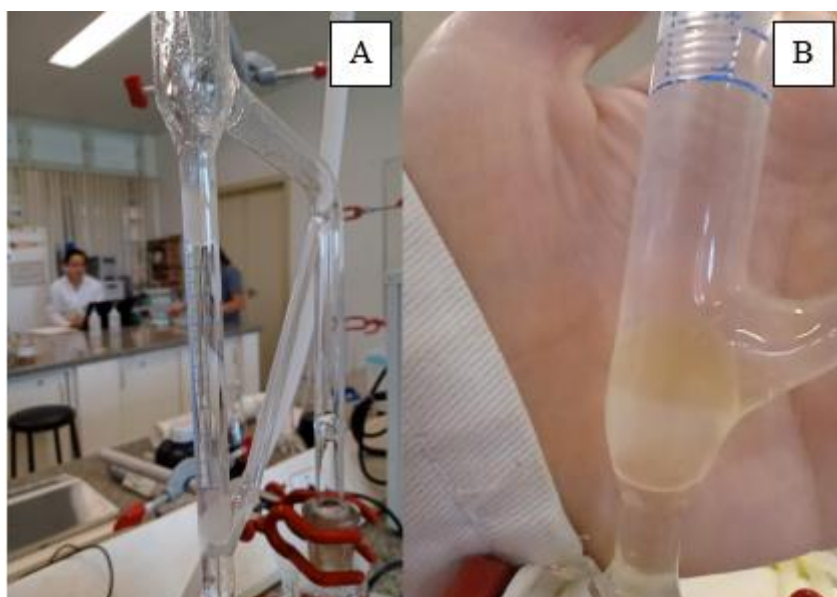
Como adendo ao trabalho, foi realizado a correlação de Person com as variáveis idade, DAP, altura e área absoluta dos componentes majoritários que apresentaram diferença estatística. O coeficiente de correlação de Pearson (r) varia de -1 a 1, e quanto mais próximo de -1 ou de +1, mais forte é a correlação entre as variáveis.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

De acordo com a literatura o óleo essencial oriundo das folhas do sassafrás se divide em duas frações, a parte mais densa e a parte menos densa que a água (KEIL, 2007). Não foi realizado estudos referentes as propriedades físicas do óleo neste trabalho, mas isso pode ser explicado pelos trabalhos de Toledo (2000), o qual diz que essas diferenças de densidade se devem a fatores como diferenças na composição química do óleo essencial.

Figura 14 – Diferentes densidades e colorações do óleo essencial das folhas de *O. odorifera*, onde A: diferentes pesos do óleo essencial e B: diferentes colorações do óleo.

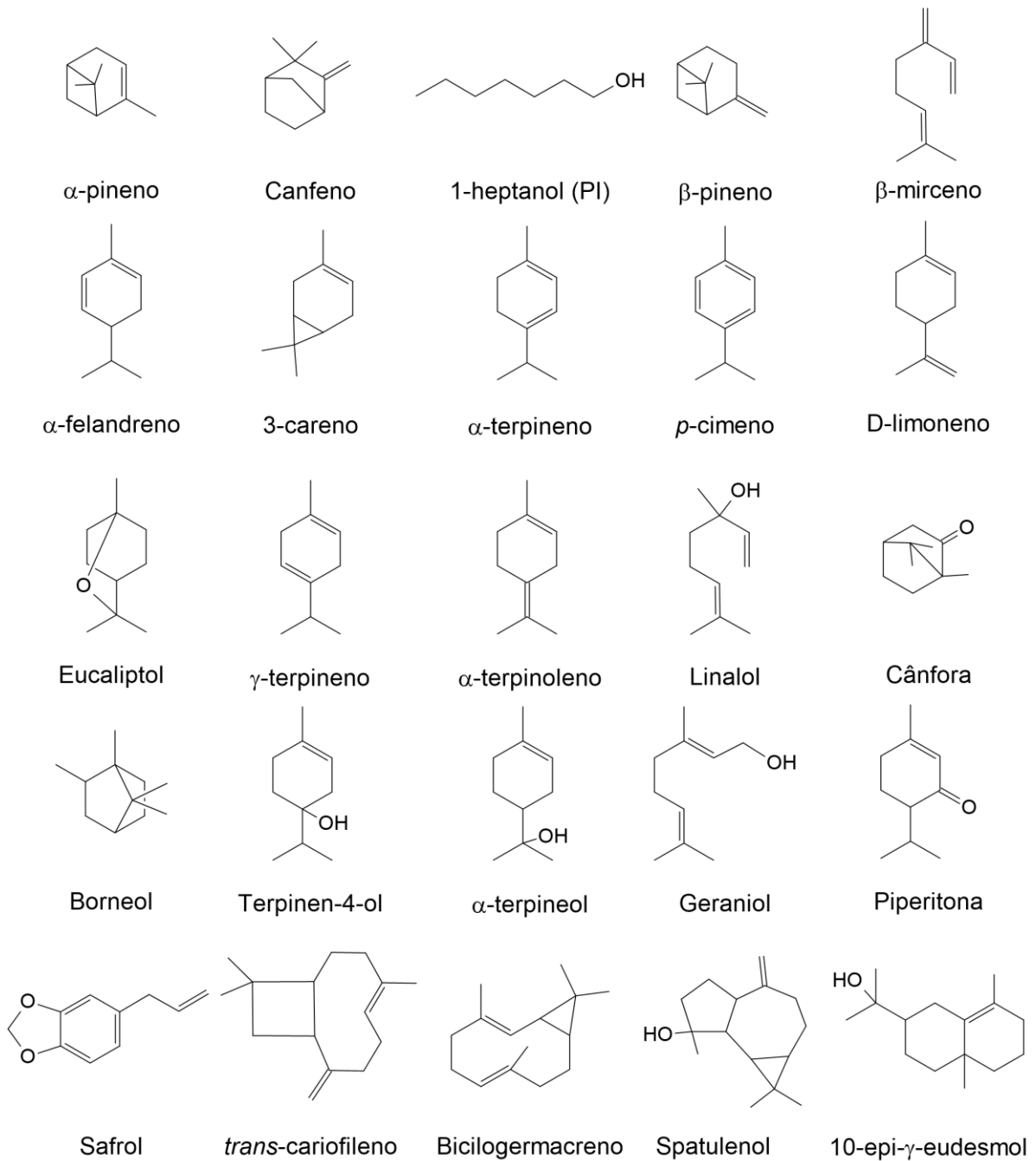


Fonte: o autor (2023).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *O. odorifera*

Na tabela 2 estão descritos os componentes do óleo essencial das folhas de *O. odorifera* que foram identificadas pela Cromatografia Gasosa acoplada a uma Espectrometria de Massas. Os componentes majoritários são: safrol, cânfora, spatulenol, 10-*epi*- γ -eudesmol, linalol e biciclogermacreno. Os componentes foram caracterizados através da comparação dos tempos de retenção, índice de retenção de Kovats (Adams, 2007) e dos espectros de massas de padrões comerciais. Foi utilizado uma mistura com 19 terpenos (Cannabis terpene mix A, SUPELCO), a saber: α -pineno, canfeno, β -pineno, mirceno, 3-careno, α -terpineno, 4-isopropiltolueno, D-limoneno, 3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno, γ -terpineno, α -terpinoleno, linalol, isopulegol, geraniol, trans-cariofileno, α -humuleno, nerolidol (mistura de isômeros cis e trans), guaiol e α -bisabolol. Todos os componentes desta mistura estão na concentração de 2500 mg L⁻¹. Os demais picos que não coincidem com os picos da mistura de terpenos foram caracterizados por comparação do índice de retenção de Kovats e dos espectros de massas contidos na base de dados (Adams, 2007). Foram observados 25 picos conforme descritos na tabela 2.

Figura 15 – Estrutura química dos componentes identificados no óleo essencial das folhas de *O. odorifera*.



Fonte: o autor (2023).

Tabela 2 – Compostos identificados por CGMS presentes no óleo essencial das folhas de *O. odorifera*.

	Composto	TR (min)	IK _{exp}	Ik teórico	Principais íons detectados	Varição entre as amostras (%)
1	α -pineno	8,53	936	939	93.1; 77.1; 105.1; 121.1; 136.2	0,36 – 0,65
2	Canfeno	8,97	951	954	79.1; 93.1; 107.1; 121.1; 136.1	1,28 – 2,18
3	1-heptanol (PI)	9,72	975	967	41.1; 43.1; 56.1; 68.1; 70.1	0,40 – 1,07
4	β -pineno	9,83	978	979	41.1; 69.1; 79.1; 93.1; 121.1	0,40 – 0,66
5	β -mirceno	10,33	993	991	41.1; 53.1; 69.1; 77.1; 93.1	0,39 – 0,68
6	α -felandreno	10,70	1004	1003	41.1; 65.1; 77.1; 93.1; 136.1	0,29 – 0,52
7	3-careno	10,88	1011	NI	44.0; 77.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,02 – 0,03
8	α -terpineno	11,09	1018	1017	41.1; 77.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,03 – 0,06
9	<i>p</i> -cimeno	11,33	1027	1025	41.1; 65.1; 91.1; 119.1; 134.1	0,27 – 0,58
10	D-limoneno	11,46	1031	1029	41.1; 68.1; 79.1; 93.1; 136.1	2,28 – 3,90
11	Eucaliptol	11,54	1034	1031	43.1; 81.1; 108.1; 139.2; 154.1	0,21 – 0,40
12	γ -terpineno	12,40	1062	1060	44.0; 77.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,02 – 0,04
13	α -terpinoleno	13,30	1090	1089	41.1; 79.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,16- 0,83
14	linalol	13,69	1101	1097	41.1; 55.1; 71.1; 93.1; 121.1	0,80 – 1,47
15	Canfora	15,03	1153	1146	41.1; 81.1; 95.1; 108.1; 152.1	22,60 – 47,31
16	Borneol	15,52	1171	1169	41.1; 67.1; 95.1; 110.1; 121.1	0,04 – 0,07
17	Terpinen-4-ol	15,83	1182	1177	41.1; 71.0; 93.1; 111.1; 154.1	0,04 – 0,09
18	α -terpineol	16,16	1193	1189	43.1; 59.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,33 – 0,71
19	Geraniol	17,08	1234	1253	41.1; 69.1; 93.1; 121.1; 136.1	0,04 – 0,06
20	Piperitona	17,66	1261	1253	41.1; 82.1; 95.1; 110.1; 152.1	0,03 – 0,07
21	Safrol	18,46	1297	1287	51.1; 77.1; 104.1; 131.1; 162.1	50,36 – 79,70
22	(-)-trans-cariofileno	20,87	1428	1419	41.1; 77.0; 91.1; 105.1; 162.1	0,10 – 0,59
23	Biciclogermacreno	22,17	1505	1500	41.1; 79.1; 93.1; 121.1; 161.1	0,14 – 0,58
24	Spatulenol	23,47	1589	1578	43.1; 91.1; 131.1; 159.1; 205.2	0,25 – 1,56
25	10-epi- γ -eudesmol	24,09	1622	1624	43.1; 81.1; 105.1; 161.1; 204.2	0,37 – 1,83

Legenda: TR: tempo de retenção em minutos; IK_{exp}: Índice de Kovats experimental; IK_{teórico}: Índice de Kovats teórico; PI: padrão interno; NI: Índice de Kovats teórico não identificado; Variação entre as amostras (%): das árvores individuais. Fonte: o autor (2023).

Observações levantadas por Toledo (2000), revelam que para o município de Araucária – PR, o conteúdo de safrol no óleo essencial das folhas de Sassafrás varia de 62-80%, enquanto que no município de Colombo – PR, o conteúdo de safrol e cânfora varia de 25-40% e 20-28% respectivamente.

De acordo com a tabela acima, os maiores percentuais de variação entre as amostras foram de Cânfora e Safrol, com os respectivos percentuais 22,60 a 47,31 e 50,36 a 79,70, os quais são uns dos componentes de maior interesse comercial. A variação desses valores pode

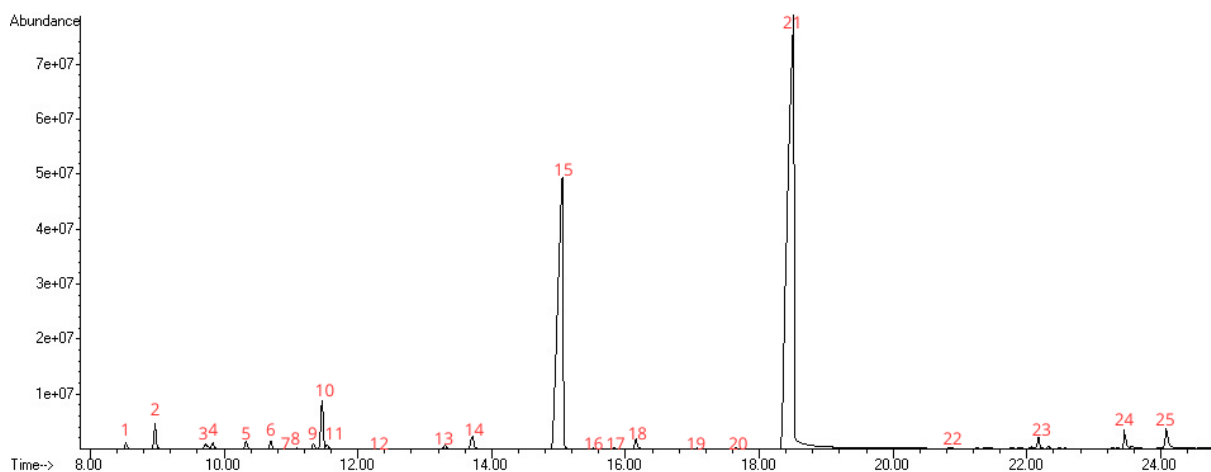
ocorrer pela diferença de temperatura, por diferentes condições de solo e até mesmo pela idade da árvore. Por outro lado, o componente menos representativo nas amostras de óleo essencial de *O. odorifera* foi o γ -terpineno, representando apenas uma variação de 0,02 a 0,04. De modo geral, o safrol se destacou em relação aos demais componentes, obtendo os maiores teores em diferentes idades.

Guimarães (2010), no município de Itumirim - MG encontrou como constituinte majoritário do óleo essencial das folhas do sassafrás, o metileugenol, compreendendo cerca de 74,03%, seguido pelo safrol com 12,26% e cânfora (7,93%). O mesmo foi relatado por Toledo (2000), o qual estudou populações nativas na região metropolitana de Curitiba e também identificou o componente metileugenol como majoritário, isso pode ocorrer devido alguma variação no ambiente em que esses indivíduos de sassafrás de Curitiba, podendo ser alguma diferença na fertilidade do solo, por exemplo.

Nos estudos realizados por Almeida *et al.* (2020), dos 16 componentes identificados dos ramos de *O. odorifera*, o safrol foi o que apresentou maior percentual, com 77,90%, seguido do spatulenol, com percentual de 4%. Em outro estudo, que avalia a composição química e os efeitos dos óleos essenciais da *O. odorifera* contra a *Leishmania amazonenses*, também identificou os componentes químicos pela cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), e relatou que os componentes majoritários em suas amostras foram o safrol, com 36,3%, o γ -cadineno, com 6,6%, a cânfora, com 6,5% e o α -copaeno, com 6,0%. Segundo o autor, outros componentes que foram identificados não são exclusivos da *O. odorifera*, como α -pineno, β -pineno, β -cariofileno e germacreno-D que fazem parte da composição química do óleo essencial de outras espécies do mesmo gênero, segundo a literatura (ALCOBA, *et al.*, 2017).

Como efeito complementar da tabela 2, a figura 16 demonstra de forma mais visual os picos de área dos 25 componentes detectados através do CGMS. Os maiores picos foram o 15 e o 21, que correspondem respectivamente aos componentes cânfora, com tempo de retenção de 15,03 minutos e safrol, com tempo de retenção de 18,46 minutos.

Figura 15 – Cromatograma de íons totais de uma amostra, com os 25 compostos detectados.



Legenda: cada número corresponde a um componente; n°1: α -pinene; n°2: camphene; n°3: 1-heptanol (PI); n°4: (-)- β -pinene; n°5: β -myrcene; n°6: α -phellandrene; n°7: 3-carene; n°8: α -terpinene; n°9: *p*-cymene; n°10: D-limonene; n°11: Eucalyptol; n°12: γ -terpinene; n°13: α -terpinolene; n°14: linalool; n°15: Camphor; n°16: Borneol; n°17: Terpinen-4-ol; n°18: α -terpineol; n°19: Geraniol; n°20: Piperitone; n°21: safrol; n°22: (-)-trans-caryophyllene; n°23: Bicyclogermacrene; n°24: Spathulenol; n°25: 10-epi- γ -eudesmol. Fonte: o autor (2023).

4.2.1 Variação dos componentes químicos durante o ano

A partir do teste de Friedman, obteve-se a diferença estatística da composição química do óleo essencial das folhas de *O. odorifera*, em diferentes meses do ano.

Tabela 3 – Picos dos componentes em diferentes meses do ano.

	mar/22	mai/22	jul/22	set/22	nov/22	jan/23	mar/23
Composto	Área do pico (*10⁶)*						
α -pineno	40,2abc	27,7a	26,7a	48,5a	33,0a	33,9a	48,0a
Canfeno	134,3a	95,2a	99,0a	161,4a	108,1a	110,4a	159,1a
β -pineno	44,7a	29,5c	29,8c	49,0a	33,7ab	31,3bc	44,0a
β -mirceno	37,5a	32,4a	28,6a	50,5a	31,6a	30,5a	47,3a
α -felandreno	35,1a	27,4a	28,5a	34,6a	21,6a	25,5a	38,5a
3-careno	2,0a	1,7a	1,7a	2,3a	1,5a	1,6a	2,5a
α -terpineno	4,7a	3,0a	3,8a	3,5a	2,5b	2,8ab	4,0a
<i>p</i> -cimeno	30,7ab	20,3c	23,4c	43,1a	32,1ab	21,8c	28,7b
D-limoneno	224,6b	169,1b	180,7b	289,3a	207,8b	176,1b	263,0a
Eucaliptol	19,9a	18,6a	19,8a	29,6a	21,6a	15,7a	20,5a
γ -terpineno	3,0a	2,1a	1,9a	2,8a	2,0a	1,9a	2,8a
α -terpinoleno	61,3a	13,8c	14,8bc	17,7ab	12,1c	13,7c	16,9b
linalol	61,3c	84,9ab	75,1bc	109,0a	59,1c	74,0c	61,1abc
Canfora	2.114,2cd	2.726,4ab	2.004,2cd	3.510,3a	2.486,8abc	1.677,3d	2.197,8bc
Borneol	5,3a	3,3b	3,2b	3,2b	3,6ab	3,5b	4,6a
Terpinen-4-ol	6,9a	3,5b	4,1b	6,8a	4,0b	3,1b	3,8b
α -terpineol	40,9a	37,5ab	31,3bc	52,7a	37,5ab	24,8c	36,7abc
Geraniol	4,1a	3,3bc	2,9c	4,0ab	3,6ab	2,7c	2,9c
Piperitona	4,6ab	2,9cd	3,4bc	5,2a	3,0bcd	2,5d	2,9cd
Safrol	4.268,2a	4.521,5a	3.736,7a	5.914,2a	4.674,3a	4.065,1a	4.287,0a
(-)-trans-cariofileno	3,2a	5,4a	3,6a	35,5a	33,8a	7,6a	43,5a
Biciclogermacreno	43,0a	21,5b	28,6ab	14,1b	10,8c	37,2a	10,8c
Spatulenol	100,7a	18,9c	46,9bc	116,0ab	96,6a	76,3ab	65,6ab
10-epi- γ -eudesmol	90,7ab	27,3b	72,7a	136,0a	83,0a	101,8a	77,7a
Total	7.371,6bc	7.316,2cd	5.923,8d	10.836,3a	7.956,5bc	6.545,4cd	7.507,9ab

*Média da área dos picos, calculada automaticamente pelo software usando a altura do pico (sinal elétrico) e o tempo de retenção da base, em minutos (n=3). Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatística entre os meses de coleta e extração (Teste de Friedman com teste Post-Hoc, teste de Fisher) Fonte: o autor (2023).

Para avaliação das mudanças nas quantidades de cada componente como uma função do período do ano foi comparada a área de cada pico. Quanto maior for a área do pico, maior é a quantidade presente na amostra de óleo essencial. Foi encontrado que a soma da área de todos os picos é maior para o óleo extraído no mês de set/22 indicando que há mais componentes por volume de óleo. Entre os 24 picos encontrados, cânfora, β -pineno, D-limoneno, α -terpineol e spatulenol parecem ter maior contribuição para o aumento do teor total de componentes uma vez que não há diferenças significativas para os demais componentes. De fato, não houve diferença significativa entre os meses de coleta e extração, pelo teste de Friedman, para o componente safrol, objeto de interesse neste trabalho.

Nos estudos realizados na primavera no município de Fazenda Rio Grande – PR (Keil, 2007), foi extraído óleo essencial das folhas de *O. odorifera*. Neste trabalho foram identificados 15 componentes os quais foram avaliados entre os tratamentos envolvendo solo natural

(controle), completo (macro e micronutrientes), omissão de alguns nutrientes e com adubação orgânica. Entre os componentes identificados, o safrol foi encontrado com 67,76% no tratamento controle. Os resultados obtidos no presente estudo, variaram de 50,36% até 79,70% para o safrol e de 22,60% até 47,31% de cânfora (tabela 3), se concentrando os maiores percentuais nos meses de setembro a novembro (inverno/primavera), porém o componente safrol não apresentou diferença significativa entre os meses de acordo com os testes estatísticos. A cânfora por outro lado, mostrou que os meses de setembro a novembro são favoráveis à extração. Toledo (2000) constatou também, que a produção de safrol pela *O. odorifera* é mais elevado na primavera, sugerindo então, esta estação para a exploração da espécie na extração de óleo essencial das suas folhas, se assemelhando com os resultados obtidos no presente estudo.

Neste sentido, o mês com maior potencial para a exploração do óleo essencial das folhas de *O. odorifera* depende do destino do óleo uma vez que o componente cânfora apresenta odor característico e intenso o que impede o uso em algumas formulações para o setor de cosméticos e perfumes, caso esse aroma não seja desejado. Além disso, se o componente de interesse comercial for o safrol, o período mais indicado para extração do óleo essencial é o mês de janeiro já que a concentração de cânfora foi a menor entre os meses avaliados. No mês de janeiro, a porcentagem relativa de safrol foi a maior entre todos os meses com 61,78 %. Esse resultado indica que a purificação do safrol para uso como componente puro se torna mais viável já que a separação é menos onerosa.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁRVORES

Na Tabela 5 são descritos os resultados para a idade, diâmetro na altura do peito (DAP) e altura de cada uma das 5 árvores utilizadas para a extração do óleo. Essa caracterização pode auxiliar no entendimento das variações da composição química e rendimento da produção de óleo essencial da planta.

De acordo com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com 5% de significância, os resíduos seguem uma distribuição normal com valor-P de 0,8258, sendo acima do valor de 0,05. O mesmo resultado pode ser observado pelo teste F (Tabela 4), que ao nível de 5% de significância, o fator *Árvore* apresentou um F calculado menor que o F tabelado, reforçando então, a distribuição normal dos dados e mostrando que são estatisticamente iguais.

Tabela 4 – Análise de Variância (ANOVA)

Fonte de Variação*	GL	SQ	QM	Fcalc.	Ftab	Valor P
Árvore	4	4,376	1,094	2,613	3,48	0,099
Resíduos	10	4,187	0,417			

*Tabela de teste para o rendimento de óleo essencial das folhas de *O. odorifera*. Legenda: GL: Graus de Liberdade; SQ: Soma de Quadrados; QM: Quadrado Médio; Fcalc: F calculado; Ftab: F tabelado. Fonte: o autor (2023).

A normalidade dos dados é considerada a partir do valor-p demonstrado na tabela 4, com valor de 0,099, estando dentro dos 95% de confiança. Vale considerar também, que se houvesse um maior número de GL, talvez os dados não apresentassem distribuição normal, fazendo-se necessário ampliar o número de indivíduos estudados.

O rendimento de óleo essencial e as propriedades do Sassafrás estão representados na Tabela 5, a qual exhibe a quantidade média de óleo essencial para 100 g de folhas obtido das extrações em triplicata, para cada indivíduo separadamente, e suas propriedades físicas.

Tabela 5 – Rendimento médio de óleo essencial por grama de folhas, das árvores individuais e suas propriedades de altura, diâmetro e estimativa de idade.

ÁRVORE	IDADE (anos)	DAP (cm)	ALTURA (m)	MÉDIAS* (g.óleo/100g de folhas secas)
A	72	37,24	17,00	0,50 ± 0,16
B	65	23,08	10,00	1,40 ± 0,21
C	34	20,85	10,30	1,13 ± 0,21
D	35	13,40	8,40	2,11 ± 0,20
E	52	26,74	12,00	0,19 ± 0,19

*Rendimento médio em porcentagem em relação a massa seca, mais ou menos desvio padrão. Legenda: DAP: Diâmetro na Altura do Peito. Fonte: O autor (2023).

Através da tabela, observa-se que o indivíduo que mais rendeu óleo essencial foi a árvore D, uma das árvores mais novas do grupo em estudo, com 35 anos de idade e 13,40 cm de DAP. Por outro lado, a árvore que apresentou o menor rendimento entre as 5, foi a árvore E com rendimento médio de óleo essencial de 0,19% e 52 anos de idade.

Diferente de rendimento, que consiste na quantidade de óleo essencial produzido pela planta, a tabela 6 nos mostra a área de pico de cada componente identificado nas amostras de óleo essencial de *O. odorifera*. O pico de um determinado componente, mostra o quanto de espaço aquele componente ocupa na amostra de óleo essencial.

Para todas as árvores, o componente Safrol foi o que trouxe maiores valores de área, variando de $2.351,78 \times 10^6$ até $5.327,79 \times 10^6$, tendo a árvore “B” como destaque na produção de safrol. Seguidos do componente safrol, as maiores áreas foram dos componentes cânfora, spatulenol, 10-epi- γ -eudesmol, linalol e biciclogermacreno. Esses resultados podem ser vistos na tabela 6.

Tabela 6 – Picos dos componentes em diferentes árvores.

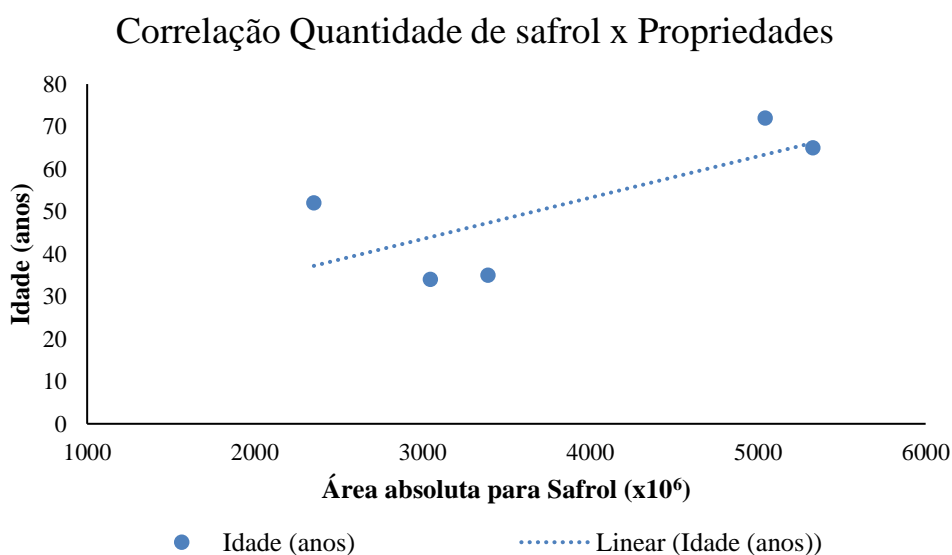
Composto	Área do pico (*10 ⁶)*				
	A	B	C	D	E
α -pineno	0,94c	22,31ab	21,42ab	25,42a	9,05abc
Canfeno	0,77d	87,54a	83,30abc	86,65ab	37,57acb
1-heptanol (PI)	25,15a	53,03a	23,37a	23,50a	21,75a
β -pineno	7,09d	29,80a	27,30abc	28,36ab	19,00bcd
β -mirceno	0,08d	30,20a	21,51abc	21,71ab	12,75bcd
α -felandreno	0,24d	23,69a	17,47abc	18,70ab	6,53bcd
3-careno	0,04d	2,18a	1,65ab	1,36abc	1,04abcd
α -terpineno	0,09a	3,30a	1,73a	2,29a	1,32a
<i>p</i> -cimeno	2,66c	26,83a	24,32ab	20,66abc	16,57c
D-limoneno	5,23d	176,37a	137,57abc	142,71ab	84,42bcd
Eucaliptol	4,02c	6,71c	11,12abc	18,00a	18,00ab
γ -terpineno	0,02d	1,39a	1,00abc	1,27ab	0,73abcd
α -terpinoleno	1,30a	13,72a	9,47a	11,32a	8,35a
linalol	17,71c	36,08bc	39,24bc	71,30a	59,76ab
Canfora	0,12c	2156,40ab	1802,98abc	1619,39bc	2385,36a
Borneol	0,01c	4,06ab	2,90abc	2,95abc	4,36a
Terpinen-4-ol	0,17c	4,29ab	3,57abc	2,79bc	6,25a
α -terpineol	1,74a	38,88a	31,60a	30,24a	34,43a
Geraniol	0,09c	3,87ab	2,80bc	3,09bc	5,11a
Piperitona	0,04d	4,55ab	2,74abc	1,85bcd	5,11a
Safrol	5043,00ab	5327,79a	3047,74abc	3390,00abc	2351,78c
(-)-trans-cariofileno	5,58bc	9,80a	7,69ab	4,69c	4,84c
Biciclogermacreno	13,87c	41,68ab	22,09abc	47,97a	17,74c
Spatulenol	245,45a	156,26ab	92,34b	143,40b	114,71b
10-epi- γ -eudesmol	245,45a	156,85ab	112,15abc	17,63d	26,25bcd
Total	5803,24a	8518,31a	5472,98a	5819,61a	5247,12 a

*Média da área dos picos, calculada automaticamente pelo software usando a altura do pico (sinal elétrico) e o tempo de retenção da base, em minutos (n=3). Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatística entre as árvores de coleta e extração (Teste de Kruskal-Wallis e Dunn). Fonte: o autor (2023).

Na figura 18, a correlação de Person representada é entre a área do pico do safrol com a idade, apresentando um $r = 0,66$. O mesmo se repete para os demais componentes, os quais obtiveram correlação positiva, com exceção do componente linalol, o qual apresentou uma correlação negativa em relação a idade ($r = - 0,67$), ou seja, quanto maior a área do pico do componente, menor é a idade da árvore.

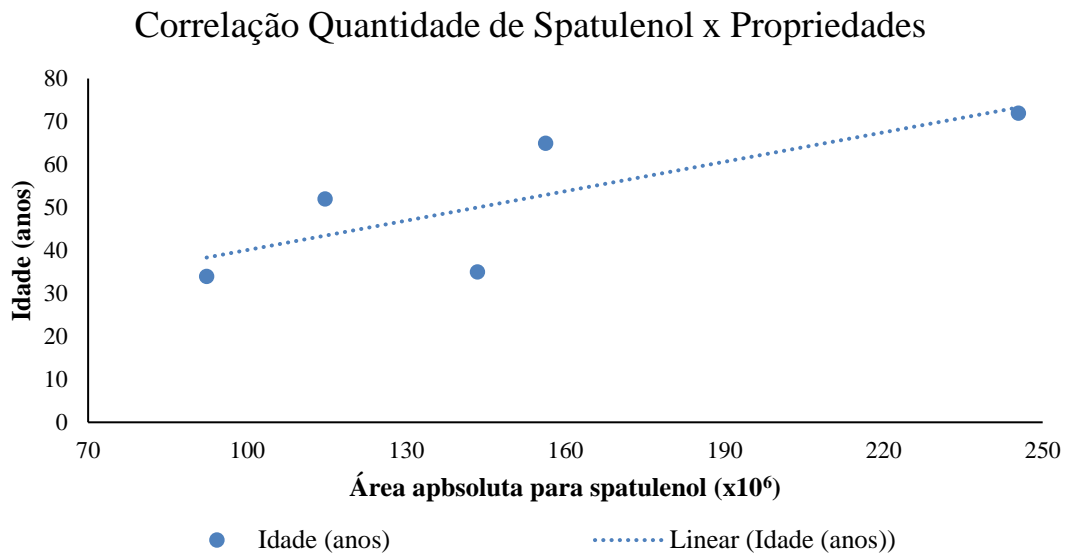
Quando correlacionado a área do pico do componente com altura e DAP, não houve relação, ou seja, a altura ou diâmetro da árvore não influencia na quantidade de determinado componente no óleo essencial. Para melhor avaliar esta relação, novos estudos são necessários, com a amostragem de um maior número de indivíduos.

Figura 16 – Correlação de Pearson com as variáveis idade e área do componente safrol, $r = 0,66$ e valor- $p = 0,007$.



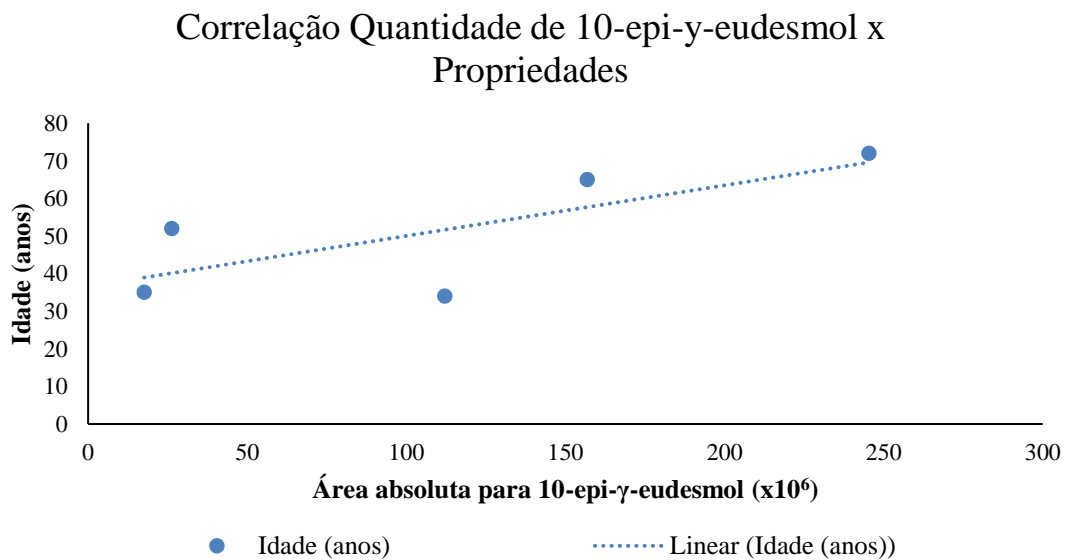
Fonte: o autor (2023).

Figura 17 – Correlação de Pearson com as variáveis idade e área do componente Spatulenol, $r = 0,67$ e valor- $p = 0,006$.



Fonte: o autor (2023).

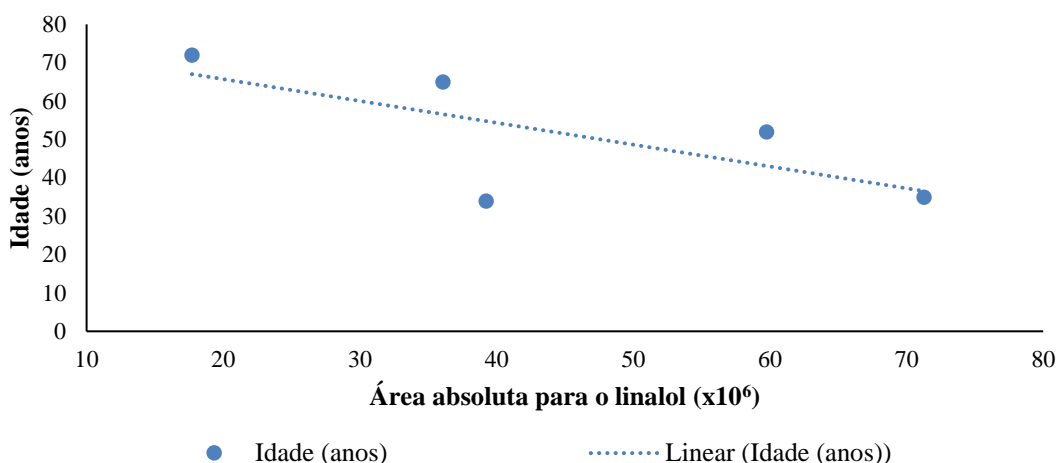
Figura 18 – Correlação de Pearson com as variáveis idade e área do componente 10-epi- γ -eudesmol, $r = 0,68$ e valor- $p = 0,004$.



Fonte: o autor (2023).

Figura 19 – Correlação de Pearson com as variáveis idade e área do componente linalol, $r = -0,67$ e valor-p = 0,006.

Correlação Quantidade de linalol x Propriedades



Fonte: o autor (2023).

Confirmar as correlações entre área absoluta do pico do componente com a idade da árvore é de extrema importância, pois isso pode influenciar diretamente nas tomadas de decisões quando o assunto for explorar diferentes produtos pela presença de diferentes concentrações de alguns componentes, como por exemplo os nossos componentes majoritários, pois se houver uma forte correlação, é possível prever para exploração em larga escala, qual componente está mais concentrado em determinada idade do indivíduo.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os fatos abordados, a primavera se mostrou a estação mais interessante para a extração de óleo essencial das folhas de *O. odorifera*.

Para a região de Rio do Sul – SC, os indivíduos estudados apresentaram maiores conteúdos de safrol e cânfora em relação aos demais componentes, diferindo de outras regiões do país.

A árvore B foi o indivíduo que apresentou maior produção do componente safrol.

A árvore que apresentou maior rendimento de óleo essencial foi a árvore D, com 34 anos de idade.

Para a exploração das árvores, recomenda-se saber o destino do óleo essencial. Sabendo qual componente químico interessa à fabricação de determinado produto, haverá indicação de qual a melhor época de extração visando um componente isolado. Desta maneira,

a sua purificação poderá ser menos onerosa. Para o safrol, especificamente, a melhor época de extração na região estudada foi o mês de janeiro, uma vez que é o mês que menos produziu cânfora, o segundo componente mais abundante nas amostras de óleo essencial das folhas de *O. odorifera*.

A partir do coeficiente de correlação de Pearson, levantou-se a hipótese de que a idade pode influenciar na área absoluta dos componentes do óleo essencial, porém, para concluir se a idade influencia ou não na quantidade de cada componente, será necessário um estudo mais aprofundado e com ao menos 30 indivíduos de sassafrás.

Todos esses fatores podem contribuir para planejar e executar um manejo sustentável para os indivíduos nativos, promovendo a sua conservação e ao mesmo tempo rentabilizando agricultores que contenham em suas propriedades, a espécie.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.

ALCOBA, A. E. T.; MELO, D. C. de, ANDRADE, P. M. de; DIAS, H. J.; PAGOTTI, M. C.; MAGALHÃES, L. G.; JÚNIOR, W. G. F.; CROTTI, A. E. M.; MIRANDA, M. L. D. Chemical composition and in vitro antileishmanial and cytotoxic activities of the essential oils of *Ocotea dispersa* (Nees) Mez and *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer (Lauraceae). **Natural product research**, v.32, n.23, p.2865-2868, 2017. Disponível em <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1385007>

ALMEIDA, R. S.; FREITAS, P. R.; ARAÚJO, A. C. J.; ALENCAR MENEZES, I. R.; SANTOS, E. L.; TINTINO, S. R.; MOURA, T. F.; FILHO, J. R.; FERREIRA, V. A.; SILVA, A. C. A.; SILVA, L. E.; AMARAL, W. do; DESCHAMPS, C; IRITI, M.; COUTINHO, H. D. M. CG-MS Profile and Enhancement of Antibiotic Activity by the Essential Oil of *Ocotea odorifera* and Safrole: Inhibition of *Staphylococcus aureus* Efflux Pumps. **Antibiotics**, v.9, n.5, p. 1 – 15, may 2020. Disponível em < https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:TirlrfpU4zgJ:scholar.google.com/+GC-MS+Profile+and+Enhancement+of+Antibiotic+Activity+by+the+Essential+Oil+of+Ocotea+odor%3ADfer+a+and+Safrole:+Inhibition+of+Staphylococcus+aureus+E%3Fux+Pumps&hl=pt-BR&as_sdt=0,5> Acesso em 16 de Out. 2023

AMARAL, E. F. do; PACHECO, E. P.; PEREIRA, J. B. M. **Aptidão natural para o cultivo de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) no estado do Acre**. Embrapa, Rio Branco – AC: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, n°32, 2000 (Instruções Técnicas, ISSN 0104-9038).

AMATO, I. Tapping tree rings for the environmental tales they tell. **Analytical Chemistry**, Washington, v.60, p. 1103–1107, 1988.

ÁVILA, B. P.; SOARES, M. M.; REAL, I. M. da L.; GUARINO, E. de S. G. Manejo de produtos florestais não madeireiros: uma revisão sobre os impactos sócioeconômicos e ambientais. **Simpósio brasileiro de agropecuária sustentável**, v.10, 2020.

BAITELLO, J. B. **Flora e Funga do Brasil**, 2014. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=%5B2%5D&idsFilhosFungos=%5B1%2C11%2C10%5D&lingua=&grupo=5&genero=Ocotea&especie=odorifera&autor=&nomeVernaculo=&nomeCompleto=&formaVida=null&substrato=null&ocorreBrasil=QUALQUER&ocorrencia=OCORRE&endemismo=TODOS&origem=TODOS®iao=QUALQUER&estado=QUALQUER&ilhaOceanica=32767&domFitogeograficos=QUALQUER&bacia=QUALQUER&vegetacao=TODOS&mostrarAte=SUBESP_VAR&opcoesBusca=TODOS_OS_NOMES&loginUsuario=Visitante&senhaUsuario=&contexto=consulta-publica Acesso em: 12 de set. 2023.

BECKEL, H.; LORINI, I.; LAZZARI, S. M. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.)(Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.50, n.1, p.110-114, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262006000100016>.

BERNSCHNEIDER-REIF, S.; ÖXLER, F.; FREUDENMANN, R.W. The origin of MDMA (“Ecstasy”) – separating the facts from the myth. **Pharmazie**, v.61, n.11, p.966-972, 2006.

BOTOSSO e DE MATTOS, 2022. (EMBRAPA - Conhecer a Idade das Árvores: Importância e Aplicação) BRASIL. Portaria no 006/92-N, de 15 de janeiro de 1992. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 jan. 1992.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. **Journal of the Chemical Society of Mexico**, [s.l.], v. 50, n. 2, p. 126-129, 2006.

CNCFLORA – Centro Nacional de Conservação da Flora. *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, 2012. Disponível em: < <http://www.cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Ocotea%20odorifera>> Acesso em 12 de set. 2023.

COELHO, J. de V. **Dendrocronologia: método matemático para determinação da idade das árvores**. 2011. 100 f. Tese (Doutorado em Física Ambiental) – Setor de Física Ambiental da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá – MT, 2011.

COLE, J.C.; SUMNALL, H.R. The pre-clinical behavioural pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.27, p.199-217, 2003

COSTA, J. L. da. **Determinação de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA - Ecstasy), 3,4-metilenodioxietilanfetamina (MDEA - Eve) e 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA) em fluidos biológicos por cromatografia líquida de alta eficiência: aspecto forense**. 2004. 142 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2004.

CREMASCO, M. A.; COELHO, E.; BRAGA, N. P. **Obtenção experimental da energia de ativação e do calor latente de vaporização do safrol utilizando-se análise termogravimétrica**. XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2015. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/276275662_OBTENCAO_EXPERIMENTAL_DA_ENERGIA_DE_ATIVACAO_E_DO_CALOR_LATENTE_DE_VAPORIZACAO_DO_SAFROL_UTILIZANDO-SE_ANALISE_TERMOGRAVIMETRICA Acesso em: 19 de set. 2023.

DINNO A (2017). **_dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums_**. R package version 1.3.5, <<https://CRAN.R-project.org/package=dunn.test>>.

EMBRAPA. **Produtos florestais não madeireiros: Uso sustentável de açaí, andiroba, castanha e cipó-titica**. Macapá: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/122259/1/CPAF-AP-2012-nao-madeireiros.pdf> >. Acesso em: 05 de set. 2023.

EMBRAPA. **Pimenta longa tem rede de pesquisa.** 2008. Disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18036201/pimenta-longa-tem-rede-de-pesquisa> Acesso em 22 de Out. 2023.

FISHER, S.; NICHOLAS, N.S.; SCHEUERMAN, P.R.. Dendrochemical analysis of Lead and Calcium in Southern Appalachian Beech. *Journal of Environmental Quality*, Madison v.31, p. 1137– 1145, 2002. FONSECA-JÚNIOR, S.F.; PIEDADE, M.T.F.; SCHÖNGART, J.; Wood growth of *Tabebuia barbata* (E. Mey.) Sandwith (Bignoniaceae) and *Vatairea guianensis* Aubl. (Fabaceae) in Central Amazonian black-water (igapó) and white-water (vázee) floodplain forests. *Trees*, Santa Mônica, v.23, p.127–134, 2009.

GUIMARÃES, L. G. de L. **Óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Alomia fastigiata* (Gardner) Benth, *Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer, *Mikania glauca* Mart. E *Cordia verbenácea* D. C.: Identificação e quantificação das estruturas secretoras, atividades antioxidante e antibacteriana.** 2010. 226 f. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2010.

HAGEMEYER, J. Monitoring trace metal pollution with tree rings: a critical reassessment. In: MARKERT, B. **Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment.** New York: VCH Weinheim, 1993. p. 541-563.

H. WICKHAM. **Reshaping data with the reshape package.** *Journal of Statistical Software*, 21(12), 2007.

H. WICKHAM. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis.** Springer-Verlag New York, 2016.

KASSAMBARA A (2023). **_rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests_.** R package version 0.7.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=rstatix>>.

KEIL, S. S. **Crescimento, nutrição e composição do óleo essencial de sassafrás submetido à fertilização e à omissão de nutrientes.** 2007. 100 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2007.

LÉDO, F. J. da S.; MENDONÇA, H. A. de.; SOUSA, J. A. de. Seleção de progênies de polinização aberta e estimativas e parâmetros genéticos em pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC.). *IN: Anais do Workshop de Encerramento do Projeto de desenvolvimento de Tecnologias para Produção de Safrol a partir da Pimenta Longa (Piper hispidinervum)*, 1, 2001, Rio Branco – AC. **Anais** [...], Rio Branco – AC: Embrapa. Documentos, p. 226.

LORENZO-FERNANÁNDEZ, P.; BOBES-GARCÍA, J.; COLADO-MEGÍA, M.I. Drogas de diseño (I): MDMA (éxtasis). In: LORENZO, P.; LADERO, J.M.; LEZA, J.C.; LIZASOAIN, I. **Drogodependencias: farmacología, patología, psicología e legislación**. Madrid: Medica Panamericana, 1998. p.157-170

MAIA, J. G.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S. Espécies de Piper da Amazônia ricas em safrol. **Química Nova**, v.10, n.3, p.200-204, 1987.

MOLLAN, T. R. M. The essential oils of the sassafras laurels. I. Ocotea pretiosa, Brazilian sassafras, safrole type. **Perfumery Essential Oil Record**, London, v. 51, p. 284-286, 1961.

MONTEIRO, A. R. P. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Embrapa, Jaguariúna – SP: **Horticultura brasileira**, v.27, n.2, 2009.

NEGREIROS, K. R. da S, MIQUELONI, D. A.; AZEVEDO, J. M. A.; GOMES, L. L. da S. **ESTUDO MORFOLÓGICO DE POPULAÇÕES DE *Piper hispidinervum* C.DC DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA**. Embrapa, Rio Branco – AC, 2012. Disponível em < <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/941858/1/24516.pdf>> Acesso em: 26 de set.2023.

PASSOS, B. G.; ALBUQUERQUE, R. D. D. G. de; MUÑOZ-ACEVEDO, A.; ECHEVERRIA, J.; LLAURE-MORA, A. M.; GANOZA-YUPANQUI, M. L.; ROCHA, L. Essential oils from Ocotea species: Chemical variety, biological activities and geographic availability. **Fitoterapia**, v.156, 2022, 105065. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105065>.

POHLERT T (2023). **_PMCMRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended_**. R package version 1.9.8, <<https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus>>.

R Core Team (2023). **_R: A Language and Environment for Statistical Computing_**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

RABEHARITSARA, A. T. et al. **Sistema de hidrodestilação utilizando aparato Clevenger modificado**. 2016. 1 Figura. Disponível em: <https://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=227&doi=10.11648/j.a.jac.20160403.17> Acesso em 23 de set. 2023.

RAGGI, L. **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÓLEOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE LAURACEAE, EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO**. 2008. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo – SP, 2008.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: Manual de Dendrologia Brasileira**. São Paulo. Edgard Blücher, 1971, p. 66-78.

ROSA, F. A. F. da. **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REGULADORA DE CRESCIMENTO VEGETAL DE NOVOS COMPOSTOS INDÓLICOS DERIVADOS DO SAFROL E RELACIONADOS AO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO**. 2002. 161 f. Tese (Pós-Graduação em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2002.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M; FIGUEIREDO, F. J. C.; NETO, O. G. da R. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. Embrapa, Belém – PA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004 (Comunicado Técnico, ISSN 1517 – 2244).

SCIPIONI, M. C.; FONTANA, C.; OLIVEIRA, J. M.; SANTINI JUNIOR, L.; ROI, F. A.; TOMAZELLO-FILHO, M. Effects of cold conditions on the growth rates of a subtropical conifer. **Dendrochronologia**, v. 68, p. 8, 2021.

SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SHULGIN, A.T. The background and chemistry of MDMA. **Journal of Psychoactive Drugs**, v.18, p.291-304, 1986.

SILVA, N. A. N.; QUEIRÓS, W. P.; BENITE, C. R. Os objetos virtuais de aprendizagem como possibilidade para o Ensino de Química: Em foco a história da destilação. **Revista Brasileira De Ensino De Química**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 105-118, 2018.

SIMANTOV, R. Multiple molecular and neuropharmacological effects of MDMA (Ecstasy). **Life Sciences**, v.74, p.803-814, 2004.

SILVA, J. L. N. da. **Estudo sintético de derivados do óleo de sassafrás**. 1987. 63 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 1987.

STEFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *Linaloolifera fujita*) utilizando CO₂**. 2003. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

TOLEDO, M. D. T. de. **Estudo botânico e fitoquímico de *Ocotea odorifera* (Vell.) (Lauraceae) Rohwer da região metropolitana de Curitiba.** Curitiba, 2000, 109 f. Tese (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2000.

WATMOUGH, S. A.; HUTCHINSON, T.C. Change in the dendrochemistry of sacred fir close to Mexico City over the past 100 years. **Environmental Pollution**, Amherst, v. 104, p. 79-88, 1999.

WICKHAM H, AVERICK M, BRYAN J, CHANG W, MCGOWAN LD, FRANÇOIS R, GROLEMUND G, HAYES A, HENRY L, HESTER J, KUHN M, PEDERSEN TL, MILLER E, BACHE SM, MÜLLER K, OOMS J, ROBINSON D, SEIDEL DP, SPINU V, TAKAHASHI K, VAUGHAN D, WILKE C, WOO K, YUTANI H (2019). “**Welcome to the tidyverse.**” *_Journal of Open Source Software_*, v.4, e.43, 1686. doi:10.21105/joss.01686 <<https://doi.org/10.21105/joss.01686>>.

WICKHAM H, FRANÇOIS R, HENRY L, MÜLLER K, VAUGHAN D (2023). *_dplyr: A Grammar of Data Manipulation_*. R package version 1.1.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>>.