

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SAGRADO CORAÇÃO**

**Shelly Stephanye dos Santos Andako**

**Estudo e comparação dos perfis de óleos essenciais em amostras comerciais de Canela, Cravo-da-Índia e Erva Doce por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas**

Bauru

2022

**Shelly Stephanye dos Santos Andako**

**Estudo e comparação dos perfis de óleos essenciais em amostras comerciais de Canela, Cravo-da-Índia e Erva Doce por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas**

Relatório Parcial de Iniciação Científica apresentado à Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa do Centro Universitário Sagrado Coração para o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), sob a orientação do Prof. Dr. Marcelo Telascrea.

Bauru

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com  
ISBD

A543e	<p>Andako, Shelly Stephanye Dos Santos</p> <p>Estudo e comparação dos perfis de óleos essenciais em amostras comerciais de Canela, Cravo-da-Índia e Erva Doce por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas / Shelly Stephanye Dos Santos Andako. -- 2022. 51f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Marcelo Telascrea</p> <p>Monografia (Iniciação Científica em Engenharia química) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Óleo essencial. 2. Cromatografia Gasosa. 3. Índice de retenção. 4. Espectrometria de massa. 5. Adulteração. I. Telascrea, Marcelo. II. Título.</p>
-------	--

Elaborado por Lidyane Silva Lima - CRB-8/9602

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus em primeiro lugar, que sempre me conduziu sustentou e me deu forças, me ensinando sobre fraternidade, humildade, compaixão e persistência hoje e sempre.

À minha mãe Rita de Cássia e ao meu pai Sadami, que me deram forças e todo suporte durante o meu trabalho e minha vida.

Aos amigos do Centro Universitário, que estiveram sempre comigo nessa longa jornada e execução do trabalho.

Ao meu orientador, o Professor Doutor Marcelo Telascrea, pela dedicação, compreensão e aprendizado que me proporcionou.

À todos que colaboraram para que essa pesquisa fosse desenvolvida e concluída.

**“O homem não teria alcançado  
o possível se, repetidas vezes,  
não tivesse tentado o impossível.”**

**(Max Weber)**

## RESUMO DO PROJETO

A adulteração de alimentos é uma ameaça à segurança alimentar. As questões de adulteração de alimentos incluem substituição, diluição, falsificação, melhorias não autorizadas, produção no mercado negro / desvio de roubo, etiquetagem incorreta, ocultação, etc. O problema da adulteração persiste em todos os níveis dos alimentos, desde a preparação até o consumo. A maioria dos fabricantes de alimentos, processadores, proprietários de restaurantes e assim por diante estão todos envolvidos de uma forma ou de outra nesta prática antiética de adulteração. A adulteração de alimentos envolve a infusão de substâncias inúteis, prejudiciais e desnecessárias aos alimentos, o que diminui a qualidade dos alimentos. Adulterantes em alimentos podem ser categorizados nas seguintes categorias: intencional e não intencional. A adulteração intencional é a inclusão de substâncias inferiores com propriedades semelhantes às dos alimentos aos quais são adicionadas. Eles são, portanto, difíceis de detectar. O adulterante pode ser de natureza física ou biológica. Alguns exemplos de adulteração intencional incluem adição de água ao leite líquido, matéria estranha a especiarias moídas ou a remoção ou substituição de sólidos do leite do produto natural e etc. Este projeto de pesquisa tem como objetivo comparar óleos essenciais obtidos de especiarias comerciais revendidas em mercados com dados da literatura e avaliar as variações nas composições para abordar potenciais adulterações de produtos. Serão avaliadas pelo menos duas amostras comerciais de canela (*Cinnamomum verum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e erva doce (*Pimpinella anisum*) e de pelo menos duas marcas comerciais diferentes. As extrações de óleos essenciais serão realizadas por hidrodestilação com Clevenger. As análises dos óleos essenciais e suas identificações será realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e por cálculos de índices de retenção (IR). Os dados obtidos serão comparados com a literatura e uma discussão sobre potenciais ou não adulterações será realizado.

Palavras-chave: *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Pimpinella anisum*, Cromatografia Gasosa, Índice de Retenção, óleos essenciais.

## ABSTRACT

Food adulteration is a threat to food safety. Such as included food substitution issues, alteration, counterfeiting, unauthorized alterations, food tampering, food alteration, mislabeling at all food levels, food concealment, persistent adulteration, etc. consumption. Most food manufacturers are the business owners of a business and other unethical adult practice. Food adulteration involves an infusion of useless, harmful substances that feed into quality food, or food. Adulterants in foods can be categorized into the following categories: intentional and unintentional. The property of intentional adulteration is the inclusion of inferior substances similar to those of added foods. They are therefore difficult to detect. The adulterant can be physical or biological in nature. Some examples of adult milk modification include addition of water to liquid, foreign matter to research peculiarities or replacement of natural product or substitution of solid milk from natural product etc. with literature data and evaluation as variations in product possibilities for potential adulterations. (CinMompsummenos commercial cinnamomum verum), cloves) and fennel (fennel from at least two different commercial brands). Essential oil extractions will be carried out by hydrodistillation with Clevenger. The samples of essential oils and their identifications performed by Gas Chromatography, Mass Spectrometry (GC) and by coupled indices will be selected (IR). Data will be obtained compared with the literature and a discussion about potential or non-tampering will be held.

Key-words: *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Pimpinella anisum*, Gas Chromatography, Retention Index, the essentials.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO DA PESQUISA .....	9
1.1 O Problema da Adulteração em Alimentos .....	9
1.2 Tipos de Adulterações .....	11
1.3 O problema da Adulteração de Alimentos .....	13
1.4 Métodos de Detecção de Adulterantes .....	14
1.5 Óleos Essenciais de Especiarias .....	17
1.5.1 Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> ) .....	17
1.5.2 Cravo-da-índia ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) .....	17
1.5.3 Erva Doce ( <i>Pimpinella anisum</i> ) .....	18
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	18
2.1 Aquisição do material vegetal .....	18
2.2 Materiais .....	18
2.3 Preparo das amostras .....	19
2.3.1 Amostras de Cravo-da-Índia ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) .....	19
2.3.2 Amostras de Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> ) .....	19
2.3.3 Amostra de erva doce ( <i>Pimpinella anisum</i> ) .....	20
2.3.4 Análises por Cromatografia Gasosa (CG) e por Espectrometria de Massas (CG-EM) .....	20
2.3.4 Identificação dos componentes do óleo essencial .....	21
2.3.5 Submissão ao CEP .....	21
3.1. Especiarias .....	22
3.2 Preparo do material vegetal .....	24
3.3 Extração dos óleos essenciais .....	26
3.4 Preparo das amostras de óleo essencial .....	28
3.5 Análise por Cromatografia Gasosa (CG) .....	30
3.5.1 Análise de amostras comerciais de Canela Z e W .....	30
3.5.2 Análise de amostras comerciais de Cravo-da-Índia X e Y .....	32
3.5.3 Análise de amostras comerciais de Erva Doce K e Q .....	33
3.6 Identificação das substâncias por Espectrometria de Massas e Índice de Retenção .....	35
4.2 Preparação do material vegetal .....	37
4.3 Preparo das amostras .....	37
4.3.1 Obtenção de óleos essenciais de <i>Cinnamomum verum</i> .....	37
4.3.2 Obtenção de óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	38
4.3.3 Obtenção de óleos essenciais de ( <i>Pimpinella anisum L.</i> ) .....	38
4.4 Obtenção dos espectros de massa .....	40
4.4.1 Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> ) .....	41
4.4.2 Erva Doce ( <i>Pimpinella anisum</i> ) .....	42
4.4.3 Cravo-da-índia ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ) .....	43
6. REFERÊNCIAS .....	44

## **1. INTRODUÇÃO DA PESQUISA**

### **1.1 O Problema da Adulteração em Alimentos**

A adulteração de alimentos é uma ameaça à segurança alimentar. As questões de adulteração de alimentos incluem substituição, diluição, falsificação, melhorias não autorizadas, produção no mercado negro / desvio de roubo, etiquetagem incorreta, ocultação, etc. (SUMAR e ISMAIL, 1995; DANEZIS et al., 2016).

Por exemplo, a adulteração de azeite de oliva por óleos vegetais de baixo valor (FILODA et al. 2019; KALIVAS et al. 2014; MILDNER-SZKUDLARZ et al., 2008), a adulteração de arroz de diferente qualidade e origem (TIMSORN et al., 2017; YU et al., 2018), a diluição de leite e a adição de melamina (SEZER et al., 2019; HUANG et al., 2014) entre outros.

A autenticidade dos alimentos tornou-se um problema global. É cada vez mais importante detectar a introdução no mercado de produtos fraudulentamente rotulados e de produtos de qualidade inferior, quer por razões econômicas, quer por razões de saúde pública. A fraude alimentar, a deturpação intencional da verdadeira identidade ou do conteúdo de um ingrediente alimentar ou produto para ganho econômico, pode ser uma ameaça à saúde pública. Por exemplo, a adulteração do leite com melamina na China afetou cerca de 290.000 consumidores, com mais de 50.000 hospitalizações e pelo menos seis mortes. Esse incidente custou às empresas US \$ 3 bilhões apenas nos primeiros 3 meses. No geral, a fraude alimentar custa à indústria alimentar cerca de US \$ 10 a US \$ 15 bilhões por ano (TIMSORN et al., 2017; YU et al., 2018).

Os incidentes de fraude em alimentos também causam efeitos secundários, incluindo a perda de confiança do público nos esforços da indústria para garantir a segurança do abastecimento alimentar e na eficácia dos sistemas regulatórios do governo. Por causa de seus graves custos econômicos e de saúde pública, a fraude em alimentos

tem recebido atenção crescente tanto dos reguladores quanto da indústria de alimentos. (EVERSTINE et al., 2018; GOSSNER et al., 2009; XIU e KLEIN, 2010).

A Comissão do *Codex Alimentarius* não tem abordado a questão da fraude alimentar, embora o assunto tenha sido discutido por vários comitês do *Codex* nos últimos anos. A *Global Food Safety Initiative* (GFSI), uma iniciativa internacional que fornece referências e orientações sobre sistemas de gestão de segurança de alimentos, realizou um trabalho nesta área, publicando revisões que requerem uma avaliação e mitigação da vulnerabilidade à fraude em alimentos. Vários programas de certificação de segurança alimentar reconhecidos propuseram ou publicaram revisões para lidar com a fraude alimentar. Os principais tipos de fraudes estão relacionados à: diluição ou substituição de matérias primas mais nobres, uso de aditivo artificial com intuito de atribuir ou mascarar algum atributo, uso de biocidas não aprovados pela legislação, informação falsa do valor nutricional e alegação fraudulenta no rótulo. (BRC GLOBAL STANDARDS, 2005; CRANDALL e O'BRYAN, 2015; SPAARGAREN, OOSTERVEER e LOEBER, 2013).

A *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA adotou uma definição de trabalho chamada de "adulteração economicamente motivada", que é a substituição ou adição fraudulenta intencional de uma substância em um produto com a finalidade de aumentar o valor aparente do produto ou reduzindo o custo de sua produção. Os regulamentos dos EUA aumentaram as responsabilidades da indústria de alimentos para implementar medidas para prevenir a adulteração com motivação econômica. A análise de perigo e as regras de controle preventivo com base no risco para alimentos humanos e animais, publicadas em 2015, incluem disposições destinadas a ajudar a prevenir a adulteração economicamente motivada de alimentos humanos e animais com adulterantes potencialmente perigosos (BRUCKER e KING, 2017).

A FDA criou regras para alimentação humana que exigem que os fabricantes conduzam uma análise de perigo para identificar e avaliar potenciais problemas conhecidos ou razoavelmente previsíveis para cada tipo de alimento fabricado, processado, embalado ou mantido em suas instalações para determinar se existem quaisquer perigos que requeiram um controle preventivo. A identificação de perigo deve considerar perigos que podem ser intencionalmente introduzidos para fins de ganho econômico. Assim, a primeira etapa da análise de risco é identificar potenciais perigos biológicos, químicos e físicos, incluindo aqueles que poderiam estar presentes porque foram introduzidos intencionalmente para ganho econômico (EVERSTINE et al., 2018).

O problema da adulteração persiste em todos os níveis dos alimentos, desde a preparação até o consumo. A maioria dos fabricantes de alimentos, processadores, proprietários de restaurantes e assim por diante estão todos envolvidos de uma forma ou de outra nesta prática antiética de adulteração. Os alimentos são adulterados pelo uso de vários produtos químicos nocivos e cores artificiais tóxicas. Alimentos podres e perecíveis são armazenados, vendidos e servidos aos consumidores. Os usos de produtos químicos tóxicos em alimentos perecíveis são evidentes em graus mais elevados, o que está colocando em perigo a vida das pessoas. O fornecimento de alimentos inseguros está contribuindo negativamente para a saúde pública com inúmeras doenças agudas e crônicas (DEREK, 2015).

## **1.2 Tipos de Adulterações**

A adulteração de alimentos envolve a infusão de substâncias inúteis, prejudiciais e desnecessárias aos alimentos, o que diminui a qualidade dos alimentos. Adulterantes em alimentos podem ser categorizados nas seguintes categorias: intencional e não intencional. A adulteração intencional é a inclusão de substâncias inferiores com propriedades semelhantes às dos alimentos aos quais são adicionadas. Eles são, portanto, difíceis de detectar. O adulterante pode ser de natureza física ou biológica. Alguns exemplos de adulteração intencional incluem adição de água ao leite líquido, matéria estranha a especiarias moídas ou a remoção ou substituição de sólidos do leite do produto natural e etc. (AREFIN, 2020).

A adulteração não intencional é a inclusão de substâncias indesejadas devido à ignorância, descuido ou falta de instalações e higiene adequadas durante o processamento dos alimentos. Isto pode ser do tipo adquirido, como contaminação de alimentos por bactérias ou fungos, deterioração de alimentos por roedores, entrada de pó e pedras, resíduos nocivos do material de embalagem, etc. ou adulteração inerente, e. presença de certos produtos químicos, compostos orgânicos ou radicais que ocorrem naturalmente em alimentos como variedades tóxicas de leguminosas, cogumelos, vegetais verdes e outros, peixes e frutos do mar (RAHMAN, 2015).

Os consumidores muitas vezes não estão cientes da adulteração, especialmente nos alimentos pré-embalados e nos alimentos que são classificados como "avulsos" (por exemplo, sem qualquer marca ou embalagem). Isso tem relevância para os consumidores analfabetos que muitas vezes se confundem com as normas de qualidade dos aditivos

permitidos e se tornam vítimas de irregularidades ou malversações no mercado. Por exemplo, cereais e leguminosas com areia, cascalho, pedras, terra ou talco são vendidos no mercado livre. Grãos de sorgo e milho saudáveis são misturados com grãos mofados contendo toxina fumonicina (GAHUKAR, 2014; JANARDHANA, RAVEESHA e SHETTY, 1999).

Os cardamomos (tipo de gengibre) de baixa qualidade (dos quais os óleos essenciais foram extraídos) podem ser misturados com cardamomos verdes de boa qualidade e o pó de pimenta vermelha é adulterado com pó de serra colorido nos mercados (JAISWAL, 2011). As sementes de pimenta-do-reino são adulteradas com sementes de mamão, sementes de grama (cobertas com pó de carvão) ou óleo mineral. Os grãos partidos ou farinha de feijão-de-árvore (*Cajanus cajan*) ou grão de bico (*Cicer arietinum*) são adulterados com ervilha (*Lathyrus sativus*) durante a preparação de lanches ou refeições. Existem relatos de consumo de grãos de trigo misturados com farinha de trigo bravo (*Polygonatum fagopyrum*) ou sementes de *Crotalaria* spp. contendo alcaloides tóxicos (SUBBANNAYYA, 2007).

Óleos e gorduras contendo hidroxianisol butilado ou hidroxiltolueno butilado (antioxidantes) são misturados com óleos comestíveis. Do ponto de vista nutricional, a mistura de óleo rançoso em óleos comestíveis destrói as propriedades das vitaminas A e E (MAJUMDAR, 2010). A mistura de gordura da carne na manteiga e na gelatina, e formaldeído no leite são adulterantes comuns (JAISWAL, 2011).

Um fungicida sistêmico (benomil) é aplicado em vegetais para inibir o crescimento de micro-organismos e evitar sua deterioração. Cera contendo morfolina como solvente e emulsificante é espalhada nas frutas para reter a umidade, prevenir o estouro da casca e danos físicos, melhorar a aparência e estender o período de armazenamento / vida útil (SUDERSHAN e BHAT, 1995). Frutos verdes são amadurecidos artificialmente com etileno para manter a firmeza e dar aparência de amadurecimento (SIDIQI e DHUA, 2010). Pó de carbonato de cálcio contendo vestígios de arsênio e fósforo é aplicado às frutas; frutas e vegetais são inflados com injeção do hormônio "oxitocina" para reter o frescor, e água colorida é injetada na melancia para conferir vermelhidão à polpa (SIDIQI e DHUA, 2010).

Muitos produtos alimentícios que não contêm corantes permitidos estão associados a doenças humanas (SUDERSHAN e BHAT, 1995). Amostras de frutas coletadas em

mercados apresentaram conteúdo de corantes não permitidos de até 730 ppm, além do limite legal. SUDERSHAN (2009) relata a presença de amarelo metanil em arroz parboilizado, cúrcuma em pó e grãos de leguminosas, além de rodamina, laranja II ou auramina em doces e alimentos.

Nos últimos anos, concentrados de sabor, corantes naturais (beta-caroteno, riboflavina, caramelo, anato, açafrão, curcumina) e cores sintéticas (azul brilhante FCF, carmoisina, eritrosina, verde FCF, ponceau 4R, amarelo-sol FCF, índigo carmim e tartrazina), permitidos até 100 ppm, tem sido encontrados em alimentos acima de 200 ppm. Da mesma forma, reguladores de acidez, agentes anticoagulantes, agentes antiespumantes, antioxidantes, agentes de volume, agentes de retenção de cor, emulsificantes, aromatizantes e intensificadores de sabor são usados rotineiramente nas unidades de fabricação e processamento (GAHUKAR, 2004).

### **1.3 O problema da Adulteração de Alimentos**

A adulteração de alimentos contribui para a sociedade com muitas doenças que variam de condições leves a fatais, como problemas de visão, problemas de fígado, doenças de pele e vários distúrbios estomacais, como diarreia. Exemplos ampla e comumente vistos são asma, doenças de pele e câncer causados pela ingestão de peixes, frutas, carne ou leite adulterado com produtos químicos como a formalina. A saúde humana é altamente sensível à adulteração de alimentos e às vezes mostra efeitos colaterais imediatos como diarreia, disenteria e vômitos. Por exemplo, o pó de café substituído por pó de semente de tâmara ou tamarindo pode causar diarreia (BANSAL, 2017).

A adulteração de alimentos recheados com creme, itens de padaria e laticínios também pode causar cólicas abdominais e vômitos. Leite e carne enlatada processados inadequadamente podem causar intoxicação alimentar e dor abdominal ou outras infecções alimentares, geralmente com febre e calafrios (SINGH e SRIVASTAVA, 2016).

Além dos efeitos imediatos, pode haver muitos efeitos adversos de longo prazo de alimentos adulterados. Efeitos de longo prazo como cólon, úlceras pépticas, doenças hepáticas como cirrose e insuficiência hepática, doenças cardíacas, distúrbios sanguíneos, anormalidades da medula óssea e danos renais foram observados devido a adulterantes

como corantes, carboneto de cálcio, ureia, óleo de motor queimado e às vezes até devido ao excesso de quantidade de conservantes permitidos (BANSAL et al., 2017).

#### **1.4 Métodos de Detecção de Adulterantes**

A substituição de qualquer ingrediente nos alimentos pode ser feita na forma de substituição total ou parcial. A detecção da substituição parcial é bastante difícil, pois antes da investigação do adulterante, a identidade dos adulterantes deve ser conhecida, além disso, a investigação da substituição parcial requer descobrir primeiro se a substituição / adulteração é deliberada ou não intencional (BANSAL et al., 2017).

Vários métodos, baseados na caracterização morfológica / anatômica, marcadores organolépticos (odor, cor, textura) e testes químicos, foram desenvolvidos para autenticar produtos alimentícios comercializados e verificar a existência de adulterantes (SHAW et al., 2002).

Dentre estas, a primeira estratégia de detecção de adulterantes pela demonstração da presença de substâncias estranhas ou um marcador é considerada a melhor e mais simples (WILHELMSSEN, 2006). O adulterante pode ser detectado por várias técnicas com base no tipo de adulterante a ser detectado. Essas técnicas incluem técnicas analíticas, físicas, químicas e as mais recentes baseadas em DNA moleculares.

Vários métodos físicos para detecção de adulteração, incluindo análise estrutural visual microscópica e macroscópica, bem como análise de alimentos por meio da análise de parâmetros físicos como morfologia, textura, solubilidade, densidade aparente, etc., foram projetados, mas esses métodos não garantem a detecção qualitativa do adulterante. Nas diretrizes regulatórias da farmacopeia, macroscopia, microscopia em combinação com perfis químicos são prescritos para identificar e autenticar ervas e plantas medicinais (SHEOREY e TIWARI, 2011). A análise da estrutura visual utilizando recursos macroscópicos e microscópicos é muito útil no caso de detecção microbiana, particularmente no caso de fungos (MANGAL et al., 2014). Além disso, o exame microscópico de algumas especiarias, como cominho, coentro, pimenta e cravo, leva à fácil detecção de amido estranho nessas especiarias em pó (SRIVASTAVA e SRIVASTAVA; 2020).

No caso de outros adulterantes, o método de detecção por microscopia eletrônica ou ótica não é muito promissor no caso do mel. Através da microscopia ótica, a

adulteração do mel com a cana-de-açúcar e seus derivados são detectáveis. Essa detecção de adulteração é baseada na detecção de células do parênquima e outras células constitutivas do açúcar de cana (LOUVEAUX et al., 1978; MANGAL, BANSAL e SHARMA, 2014). Com o advento da microscopia eletrônica, agora é possível detectar a origem botânica do mel de forma eficiente, analisando o padrão de superfície do pólen do mel. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) também tem sido usada para estudar o pólen de variedades de maçã (OHE, 1991). Embora melhorias tenham sido trazidas pelo MEV a análise microscópica eletrônica não é uma técnica de rotina barata, pois requer uma preparação meticulosa da amostra.

Vários métodos químicos e bioquímicos para detecção de adulterantes foram projetados, os quais podem ser categorizados como baseados em cromatografia, baseados em espectroscopia, baseados em imunologia e baseados em eletroforese. Embora esses métodos sejam mais precisos e sensíveis do que as técnicas físicas, sua aplicabilidade industrial é prejudicada pelo custo e pela necessidade de treinamento especializado (HERNANDEZ, et al., 1994). A abordagem analítica básica envolve várias etapas como: extração com um solvente adequado; limpeza para remoção de componentes interferentes da matriz; c) separação cromatográfica e; d) detecção seletiva.

Dentre as técnicas analíticas de detecção de adulterantes, a HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) é a técnica mais utilizada. HPLC pode ser usado como uma ferramenta de controle de qualidade, pois pode separar vários constituintes químicos das misturas; também é usado para caracterizar produtos alimentícios ou para detectar adulteração. A adulteração de azeite com óleo de avelã (BLANCH et al., 1998), compotas de marmelo com purê de maçã ou pêra (SILVA et al., 2000), sucos cítricos com glicosídeos de flavonas e flavonas polimetoxiladas (MOULY et al., 1998), pigmentos fenólicos em licores de chá preto (MCDOWELL et al., 1995), isômeros de prolina e aminoácidos em vinhos (CALABRESE et al., 1995) são alguns dos exemplos em que o adulterante foi detectado usando HPLC.

A cromatografia gasosa (CG) é usada para separar compostos orgânicos voláteis. A CG junto com espectroscopia de massa (EM) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) tem sido amplamente usada para detecção de adulterantes, pois essas são técnicas não destrutivas em relação à amostra. A cromatografia de gás é geralmente usada para discriminar entre variedades do mesmo produto, detecção de adulteração e autenticação e identificação de compostos orgânicos.

O CG tem sido utilizado para diferenciar vinhos das mesmas regiões. Compostos voláteis, como 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-propen-1-ol e 3-metil-1-butanol em vinho foram medidos e quantificados por CG ou CG - EM, fornecendo 30 parâmetros físico-químicos utilizáveis para o padrão classificação (NOGUEIRA et al., 1999). Uma ferramenta complementar poderosa cada vez mais usada para a caracterização de alimentos são as redes neurais artificiais.

Entre as técnicas espectroscópicas, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) ajuda na detecção rápida de adulterantes na matéria-prima, mas é incapaz de identificar o contaminante. O NIR também mostrou potencial para ser usado como uma ferramenta para detectar fraude e adulteração de produtos à base de soja usados como ração animal (HAUGHEY et al., 2013). Outro método de detecção, a ressonância magnética nuclear (NMR) não apenas detecta um adulterante, mas também fornece a identificação estrutural do contaminante. A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) por meio de inspeção espectral detalhada pode diferenciar amostras adulteradas de amostras não adulteradas, mas incapaz de identificar o adulterante (OZEN e MAUER, 2002). A espectroscopia FTIR tem mostrado excelente potencial para detecção de adulterantes de leite e pode ser usada na indústria de alimentos para substituir técnicas menos eficientes e mais demoradas (NICOLAOU, XU, GOODACRE, 2010). Ao contrário disso, o dispositivo Raman portátil fornece medições rápidas, mas não consegue diferenciar amostras adulteradas de não adulteradas (WEN et al., 2012). A espectrometria de absorção atômica pode ser utilizada como método de validação para análise de chumbo em todos os alimentos, exceto óleos, gorduras e produtos extremamente gordurosos. A técnica espectrométrica também foi utilizada para determinar o conteúdo de gama orizanol (%) em óleos a partir de medições de absorção de espectrofotômetro no comprimento de onda de absorção máxima próximo a 315 nm (BANSAL, 2017).

Uma combinação de técnicas cromatográficas e espectroscópicas também mostrou um alto potencial para detecção de adulterantes, por exemplo, GC-MS mostrou potencial para detectar adulteração de mel com xaropes comerciais (RUIZ-MATUTE et al., 2007). A microextração em fase sólida-cromatografia gasosa-espectroscopia de massa (SPME-GC-MS) também tem sido empregada com sucesso para a detecção de adulteração de café torrado moído com cevada torrada (OLIVEIRA et al., 2009).

Outra combinação de espectroscopia e cromatografia LC-MS-MS foi aplicada com sucesso para a determinação de adulterantes em remédios fitoterápicos (BOGUSZ et al., 2006). Recentemente, a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e a combinação de métodos quimiométricos foram descritos como um método rápido para detecção de adulteração (NICOLAOU et al., 2010). Mais uma combinação de técnicas como Plasma Indutivo Acoplado - Espectrometria de Massa (ICP-MS) pode ser utilizada como método de validação para análise de chumbo em todos os alimentos (BANSAL, 2017).

## **1.5 Óleos Essenciais de Especiarias**

### **1.5.1 Canela (*Cinnamomum verum*)**

*Cinnamomum verum* produz principalmente óleos de folhas e cascas, que são usados em perfumaria, especiarias e aromatizantes. O principal componente do óleo essencial da folha é o eugenol, enquanto o do óleo da casca é o cinamaldeído. Senanayake e colaboradores (1978) identificaram cerca de 32 componentes do óleo de canela, dos quais o eugenol (70,1%) e o cinamaldeído (75,0%) foram os principais compostos na folha e na casca, respectivamente. O óleo da casca da raiz contém cânfora (56,2%) e 1,8-cineol (11,7%) como componentes principais. Estudos indicaram que na canela, dependendo de suas variedades, podem ser registrados de 2,7 a 2,8% de óleo essencial e 10% de óleo resina nas cascas e cerca de 3% de óleo de folha (KRISHNAMOORTHY et al. 1996).

### **1.5.2 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)**

O cravo-da-índia é colhido na forma de botão floral maduro e comercializado na forma de botão floral seco, sendo a qualidade do produto (cravo com cabeça proveniente de botão colhido antes da antese) primordial para a obtenção de melhores preços no mercado nacional e internacional. O óleo essencial do botão do cravo é pouco produzido, embora sua procura seja grande. O botão contém 17% de óleo essencial e o talo que o acompanha contém 4,5 – 6,0%. O principal componente do óleo de cravo é geralmente considerado como eugenol seguido pelo  $\beta$ -cariofileno e menores quantidades de outros componentes, tais como álcool benzílico, mas as proporções variam amplamente (BARROS et al., 2018).

### 1.5.3 Erva Doce (*Pimpinella anisum*)

O anis (*Pimpinella anisum* L.) é uma planta aromática da família Apiaceae. É uma erva anual nativa do Oriente e amplamente cultivada na orla do Mediterrâneo (Turquia, Egito, Síria, Espanha, etc.). Seus frutos são chamados de sementes de anis e contêm de 1 a 4% de óleo essencial. (*E*)-anetol é o componente principal (75-95%) sendo que podem ser detectados outros componentes como anisaldeído, estragol, isoeugenol,  $\gamma$ -himachaleno, anisol, acetoanisol e ácido *p*-anísico. O rendimento e o conteúdo de (*E*)-anetol do anis são afetados pelo genótipo, pelas condições ecológicas e principalmente pelas práticas agrícolas, como a época de semeadura, fertilizantes, aplicação de água e densidade da planta (SAIBI, BELHADJ e BENYOUSSEF, 2012).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Aquisição do material vegetal

Os produtos comerciais de canela (*Cinnamomum verum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e erva doce (*Pimpinella anisum*) foram obtidos em supermercados da região de Botucatu/SP, adquirindo cerca de 20 g de cada um dos materiais para as extrações.

### 2.2 Materiais

Os materiais utilizados até o momento, para a pesquisa foram:

- 2 marcas de canela obtidas comercialmente (20g);
- 2 marcas de cravo-da-Índia obtidas comercialmente (20g);
- 2 marcas de erva doce obtidas comercialmente (20g);
- Pipetas tipo *Pasteur*;
- 6 vidros de 3 mL tipo *vials*;
- Balança analítica;
- Béqueres de 0,5 L;
- Balões de 0,5 mL;
- Manta de Aquecimento;
- Condensador tipo Clevenger;
- Água destilada

- Sistema de resfriamento de água: bomba de aquário, gelo e mangueiras.
- Espectrômetro de massa.

### 2.3 Preparo das amostras

As amostras foram mantidas em suas embalagens originais, pois como o material vegetal (especiarias) já vêm em embalagens à vácuo, elas foram mantidas assim até o dia da hidrodestilação por Clevenger (1928a e 1928b).

#### 2.3.1 Amostras de Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*)

Foram obtidos 10,4043g de cravo-da-índia da **marca X** (comprada no supermercado de Botucatu/SP) e colocados no béquer de 0,5 L (Figura 1). Em seguida, essa quantidade foi colocada no balão de 0,5 L, adicionando-se água destilada ultrapura até 70% do volume (Figura 2). O balão, então, foi colocado na manta de aquecimento para a realização da hidrodestilação por Clevenger. Após uma hora, obteve-se o óleo essencial, que foi guardado em vidro do tipo vials. Obteve-se 0,5683g de óleo (amostra 1).

Assim como a amostra anterior, foram pesadas 10,4037g de cravo-da-índia da **marca Y** (comprada no supermercado de Botucatu/SP) no béquer de 0,5 L. Logo após, a especiaria foi colocada no balão de 0,5 L, adicionando-se água destilada ultrapura até 70% do volume. O balão, então, foi colocado na manta de aquecimento para a realização da hidrodestilação por Clevenger. Após uma hora, obteve-se o óleo essencial, que foi guardado em vidro do tipo vials. Obteve-se 1,2983g de óleo (amostra 2). O óleo essencial representa apenas uma parte do todo da componente volátil (essência) passível de ser obtida de uma planta, ou seja, é apenas uma fração da panóplia de produtos naturais, que são produzidos pelas diversas partes dela.

#### 2.3.2 Amostras de Canela (*Cinnamomum verum*)

Em um béquer de meio litro foram pesadas 10,1160g de canela da **marca Z** (adquirida no supermercado de Botucatu/SP). A especiaria foi colocada em um balão de 0,5 L, juntamente com água destilada até 70% do volume. O balão foi colocado na manta de aquecimento para a hidrodestilação com condensador tipo Clevenger. Após uma hora obteve-se 0,3500g de hidrolato (amostra 1).

Na sequência, foram pesadas 10,1016g de canela da **marca W** (também adquirida no supermercado de Botucatu/SP) e repetiu-se o processo, encaminhando-a para o balão de 0,5 L, adicionando água destilada até 70% do balão. Depois, esse balão foi colocado na manta de aquecimento e conectado ao sistema de destilação do tipo Clevenger. Após uma hora, conseguiu-se 0,3000g de hidrolato (amostra 2). O hidrolato é uma solução de princípio ativo obtida pela ação da água sobre substratos vegetais ou animais.

### **2.3.3 Amostra de erva doce (*Pimpinella anisum*)**

Foram pesadas 10,0002 g de erva doce da **marca K** (obtida no supermercado de Botucatu/SP) em um béquer de meio litro. Posteriormente, a especiaria foi colocada em um balão de 0,5 L, juntamente com água destilada até 70% do volume do balão. Depois, esse balão foi colocado na manta de aquecimento e conectado ao sistema de destilação do tipo Clevenger. Depois de uma hora, obteve-se 0,4800g de hidrolato (amostra 1).

Em seguida, foram pesadas, em um béquer de 0,5 L, 10g de erva doce da **marca Q** (também obtida no supermercado de Botucatu/SP) e encaminhadas para um balão de 0,5 L com adição de água destilada até completar 70% do balão. Depois, esse balão foi colocado na manta de aquecimento e conectado ao sistema de destilação do tipo Clevenger. Foi obtido 0,4200g de hidrolato (amostra 2). O hidrolato, também chamado de águas florais ou hidrossóis, são soluções com princípio ativo obtidas a partir de substratos vegetais ou animais.

### **2.3.4 Análises por Cromatografia Gasosa (CG) e por Espectrometria de Massas (CG-EM).**

As análises serão realizadas usando um modelo Shimadzu QP-5000 com espectrômetro de massa com cromatógrafo a gás equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J & W Scientific) (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm). A temperatura do forno será programada de 60 a 240°C, com gradiente de temperatura de 3°C por minuto. As temperaturas do injetor e interface serão mantidas a 240 e 230°C, respectivamente (ADAMS, 2012). O gás carreador será hélio a uma vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> (volume constante). Os espectros de massa serão obtidos a 70 eV no modo de íons totais (TIC). Amostras (1,0 µL) de concentrações conhecidas serão injetadas manualmente no modo split (20: 1).

As análises serão gentilmente fornecidas e realizadas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) Fazenda Santa Elisa, no Centro de Recursos Genéticos Vegetais em colaboração com a Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques.

#### **2.3.4 Identificação dos componentes do óleo essencial**

As identificações dos componentes dos óleos essenciais serão feitas utilizando como referência os espectros de massas obtidos dos picos cromatográficos e comparados com dados teóricos da biblioteca de dados NIST 62 (MCLAFFERTY e STAUFFER, 1989; ADAMS, 2012; ADAMS, 1995).

Os índices de retenção serão determinados em relação aos tempos de retenção de uma série de padrões de n-alcenos (C-10 a C-30), medidos nas mesmas condições cromatográficas descritas acima e comparados com os valores publicados. A equação 1 (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963) será utilizada para o cálculo do índice de retenção:

$$I = [(T's - T' Cn) / (T' Cn + 1 - T's)100] + 100. Cn \quad (1)$$

Onde:

*I = índice de retenção*

*T's = tempo de retenção ajustado da substância analisada;*

*T' Cn = tempo de retenção ajustado do n-alceno que elui antes da substância;*

*T' Cn+1 = tempo de retenção ajustado do n-alceno que elui após a substância;*

*Cn = número de carbonos do n-alceno que elui antes da substância analisada.*

A obtenção dos dados será gentilmente cedida pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) Fazenda Santa Elisa, no Centro de Recursos Genéticos Vegetais em colaboração com a Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques.

#### **2.3.5 Submissão ao CEP**

Não houve necessidade de submissão deste trabalho ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP).

### **3. RESULTADOS**

### 3.1. Especiarias

As especiarias utilizadas, cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum verum*) e erva doce (*Pimpinella anisum*), foram compradas nos supermercados da cidade de Botucatu, interior de São Paulo. A Figura 1 mostra a localização da cidade escolhida para a compra das especiarias.

**Figura 1.** Localização da cidade escolhida para a compra das especiarias.



**Fonte:** Google Maps

Foram compradas especiarias de duas marcas diferentes, totalizando seis amostras no final do procedimento. As Figuras a seguir, mostram as especiarias utilizadas no projeto.

Figura 2. Amostra K da erva-doce utilizada    Figura 3. Amostra Q da erva doce utilizada



Fonte: próprio autor.



Fonte: o próprio autor.

Figura 4. Amostra Z da canela utilizada.

Figura 5. Amostra W da canela utilizada.



Fonte: o próprio autor.



Fonte: o próprio autor.

Figura 6. Amostra X de cravo-da-índia utilizada



Fonte: o próprio autor.

Figura 7. Amostra Y de cravo-da-índia utilizada



Fonte: o próprio autor.

### 3.2 Preparo do material vegetal

As amostras foram mantidas em suas embalagens originais, pois como o material vegetal (especiarias) já vêm em embalagens à vácuo, elas ficaram nas embalagens até o dia do procedimento de hidrodestilação por Clevenger. Foram separadas 10 gramas de cada amostra em béqueres de 0,5 L e, depois, as elas foram encaminhadas para um balão volumétrico de meio litro juntamente com água destilada ultrapura até completar 70% de seu volume.

Figura 8. Imagem do processo de pesagem.



Fonte: o próprio autor.

Figura 9. Adição da planta e de água até 70% do volume.



Fonte: o próprio autor.

### 3.3 Extração dos óleos essenciais

A extração dos óleos essenciais foi feita através do método de hidrodestilação por Clevenger, que é um procedimento em que a solução é aquecida em um balão fundo redondo sobre uma manta aquecedora que entra em ebulição, os vapores resultantes desse processo passam pelo condensador e depois o óleo essencial é conduzido para outro recipiente.

Figura 10. Sistema de Extração com condensador Clevenger.



Fonte: o próprio autor.

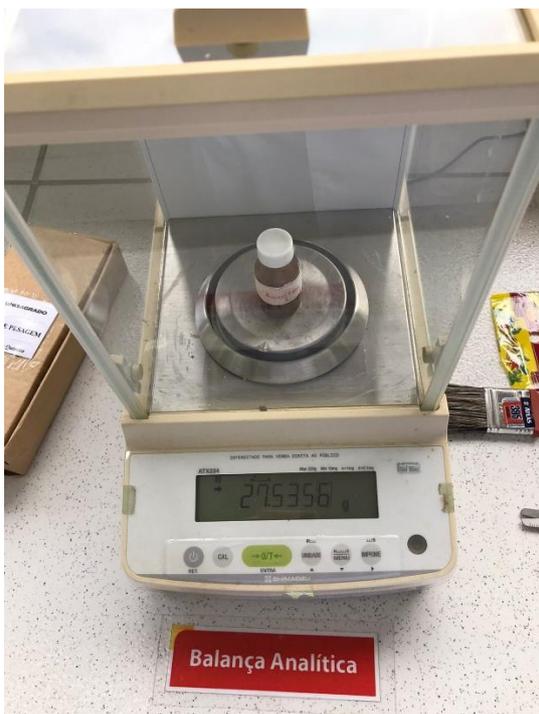
Figura 11. Solução entra em ebulição.



Fonte: o próprio autor.

Foram realizadas seis extrações, sendo duas de óleo essencial de cravo-da-índia e quatro de hidrolatos de canela e erva doce. Todas as extrações foram realizadas no laboratório do Unisagrado em Bauru, interior de São Paulo. Todas as massas foram anotadas para posterior cálculo de rendimento.

Figura 12. Pesagem do recipiente da amostra.      Figura 13. Pesagem do óleo essencial.



Fonte: o próprio autor

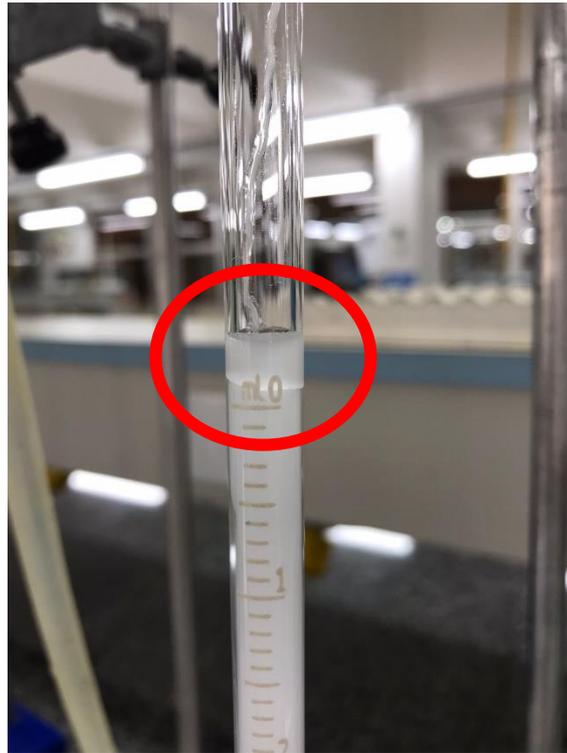


Fonte: o próprio autor.

### 3.4 Preparo das amostras de óleo essencial

As amostras dos óleos essenciais e hidrolatos das especiarias obtidos da condensação foram coletadas em sua totalidade no ponto indicado na Figura 14. As amostras de óleos essenciais e hidrolatos foram acondicionadas em frascos de vidro devidamente identificados e acondicionados em freezer ( $-18^{\circ}\text{C}$ ), aguardando o envio das amostras para o Instituto Agrônômico de Campinas – IAC.

Figura 14. Formação de óleo essencial



**Fonte:** o próprio autor.

Figura 15. Óleo essencial coletado.



**Fonte:** o próprio autor.

Figura 16. Amostras de óleos essenciais



Fonte: o próprio autor.

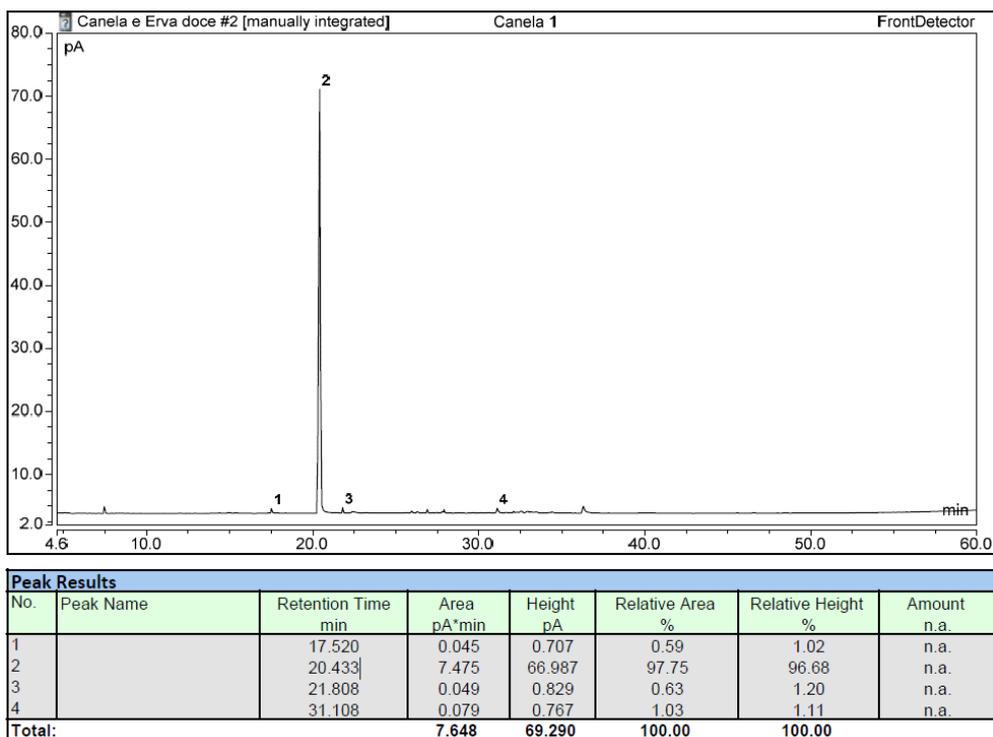
### 3.5 Análise por Cromatografia Gasosa (CG)

Aqui serão apresentados os resultados das análises realizadas por Cromatografia Gasosa.

#### 3.5.1 Análise de amostras comerciais de Canela Z e W

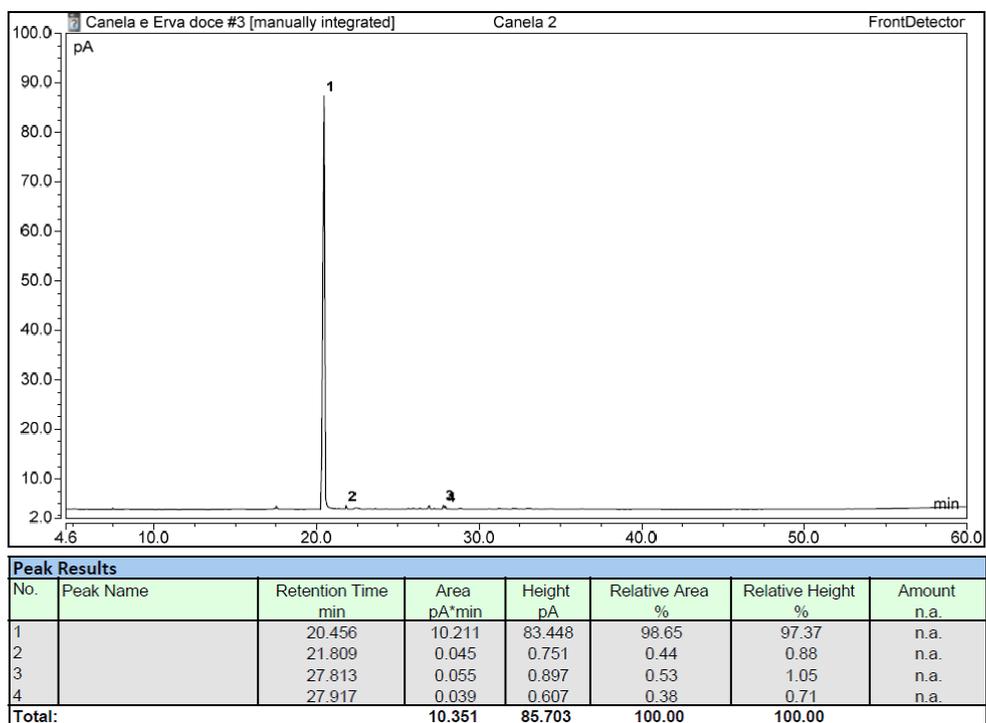
Como apresentado no Relatório Parcial, após as extrações de 2 amostras comerciais de canela (*Cinnamomum verum*), estas foram analisadas pela técnica de Cromatografia Gasosa. A análise da amostra comercial de canela Z indicou a presença de um pico majoritário (97,75%) em 20.43 minutos. Este mesmo pico majoritário (98,65%) também foi observado na amostra comercial de canela W em 20,45 minutos (Figuras 17 e 18, respectivamente). Outros picos foram observados, porém com intensidades próximas de 1%.

Figura 17. Cromatograma típico da amostra comercial de canela Z.



Fonte: Instituto Agronômico de Campinas – IAC.

Figura 18. Cromatograma típico da amostra comercial de canela W.

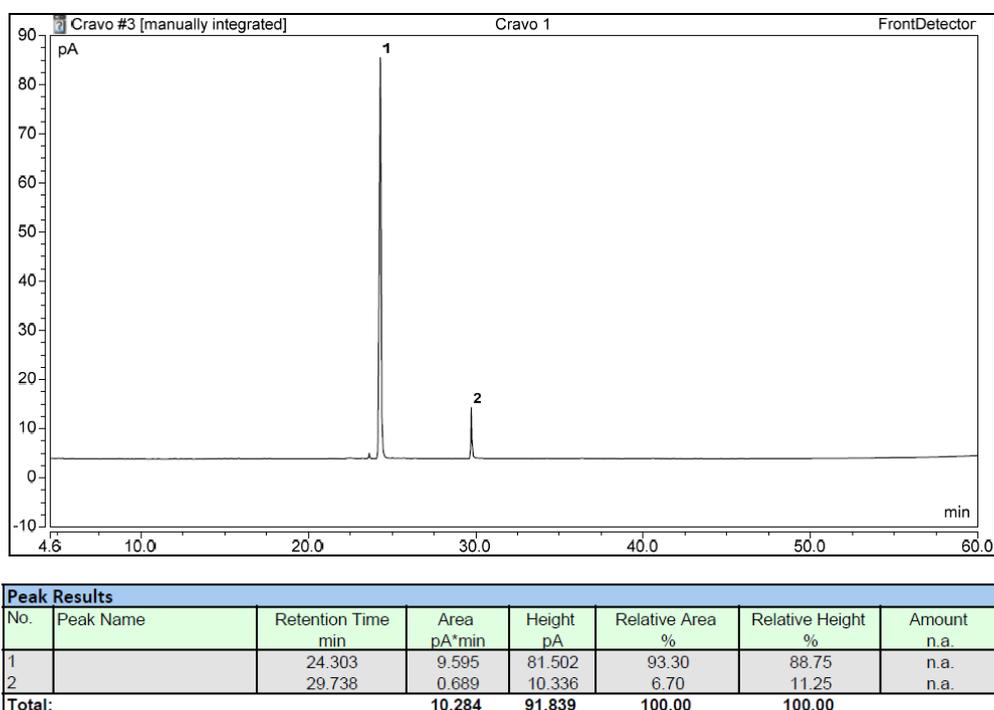


Fonte: Instituto Agronômico de Campinas – IAC.

### 3.5.2 Análise de amostras comerciais de Cravo-da-Índia X e Y

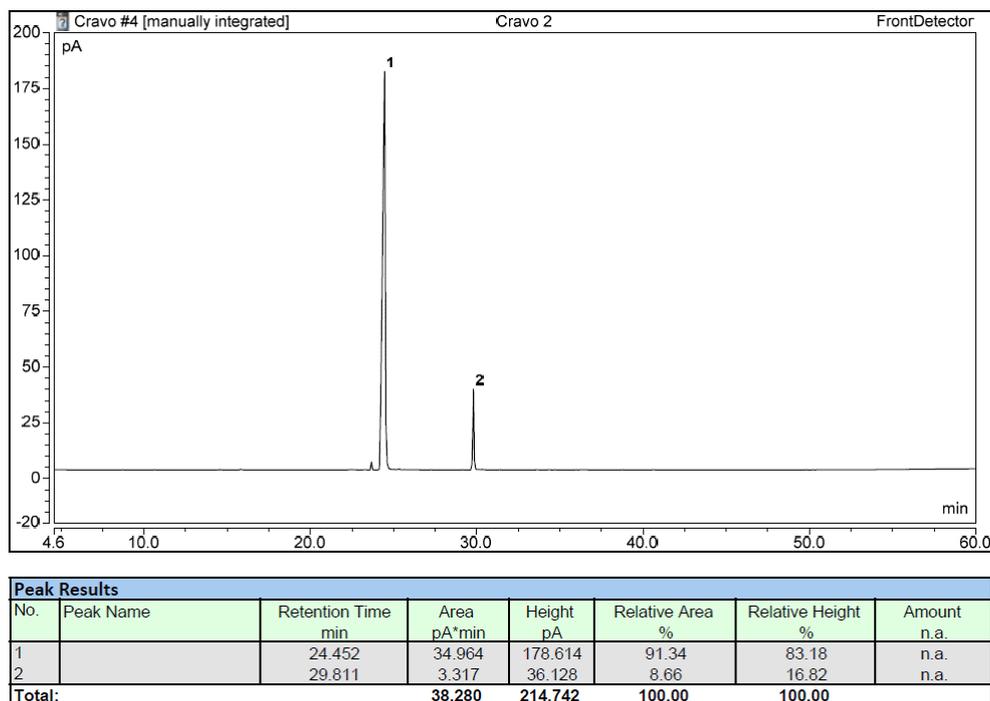
Após as extrações de 2 amostras comerciais de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), estas foram analisadas pela técnica de Cromatografia Gasosa. A análise da amostra comercial de cravo-da-índia X indicou a presença de um pico majoritário (93,30%) em 24,30 minutos. Este mesmo pico majoritário (91,34%) também foi observado na amostra comercial de cravo-da-índia Y em 24,45 minutos (Figuras 19 e 20). Um outro pico foi observado em 29,73 minutos (6,70%) e em 29,81 minutos, respectivamente nas amostras comerciais de cravo da índia X e Y.

Figura 19. Cromatograma típico da amostra comercial de cravo-da-índia X.



Fonte: Instituto Agrônômico de Campinas – IAC.

Figura 20. Cromatograma típico da amostra comercial de cravo-da-índia Y.

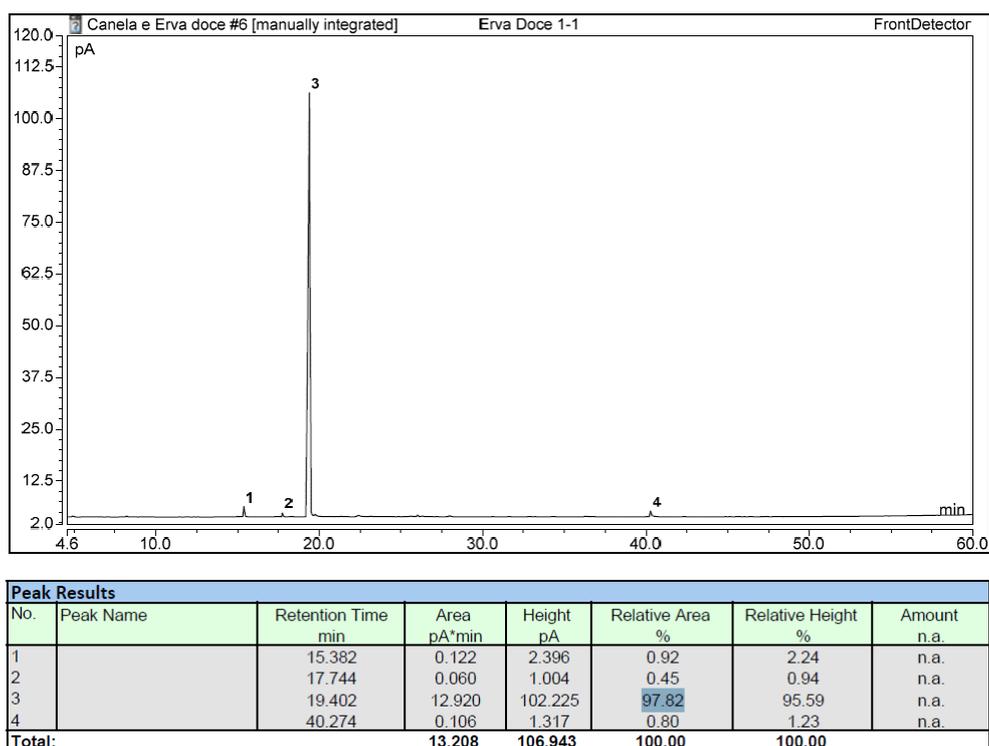


Fonte: Instituto Agronômico de Campinas - IAC

### 3.5.3 Análise de amostras comerciais de Erva Doce K e Q

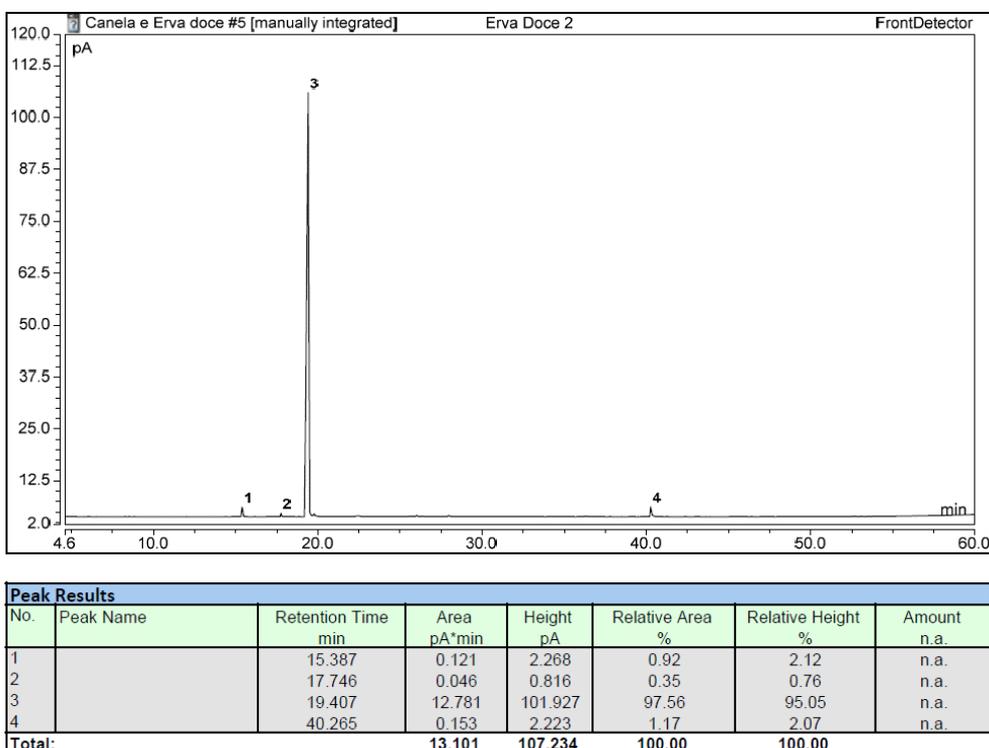
Após as extrações de 2 amostras comerciais de erva doce (*Pimpinella anisum*), estas foram analisadas pela técnica de Cromatografia Gasosa. A análise da amostra comercial de erva doce K indicou a presença de um pico majoritário (97,82%) em 19,40 minutos. Este mesmo pico majoritário (97,56%) também foi observado na amostra comercial de erva doce Q em 19,40 minutos (Figuras 21 e 22). Outros pequenos picos podem ser observados com menores intensidades que 1,0%, respectivamente nas amostras comerciais de erva doce K e Q.

Figura 21. Cromatograma típico da amostra comercial de erva doce K.



Fonte: Instituto Agronômico de Campinas - IAC

Figura 22. Cromatograma típico da amostra comercial de erva doce Q.



Fonte: Instituto Agronômico de Campinas - IAC

### 3.6 Identificação das substâncias por Espectrometria de Massas e Índice de Retenção

As identificações dos componentes dos óleos essenciais obtidos nas amostras comerciais de canela (*Cinnamomum verum*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) e erva doce (*Pimpinella anisum*) foram feitas utilizando como referência os espectros de massas obtidos dos picos cromatográficos experimentais comparados com dados teóricos da biblioteca de dados NIST 62 (ADAMS, 2012). Os índices de retenção foram determinados em relação aos tempos de retenção de uma série de padrões de n-alcenos (C-10 a C-30), medidos nas mesmas condições cromatográficas descritas acima e comparados com os valores publicados (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963). Através da análises pode-se identificar um grupo importante de substâncias que são características na identificação de cada amostra, como poderá ser visto nos Quadros a seguir.

Vale ressaltar que esta etapa da identificação foi realizada pela equipe do IAC sob responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques que colaborou com este projeto de pesquisa.

No Quadro 1 são apresentadas as substâncias identificadas nas amostras comerciais de canela Z e W. Em cada amostra foram identificadas 4 substâncias.

Quadro 1. Substâncias identificadas nas duas amostras comerciais de canela.

CANELA Z				
Pico	Substâncias	IR calc	IR lit	% relativa
1	Z- cinamaldeído	1254	1267	0,59
2	E-cinamaldeído	1320	1267	97,75
3	$\alpha$ -copaeno	1374	1374	0,63
4	E-o-metoxicinamaldeído	1588	1527	1,03
CANELA W				
Pico	Substâncias	IR calc	IR lit	% relativa
1	E-cinamaldeído	1320	1267	98,65
2	$\alpha$ -copaeno	1375	1374	0,44
3	$\delta$ -cadineno	1525	1522	0,53
4	E-calameneno	1526	1521	0,38

Fonte: Instituto Agrônomo de Campinas – IAC; IRcalc = índice de retenção calculado; IR lit = índice de retenção da literatura

No Quadro 2 são apresentadas as substâncias identificadas nas amostras comerciais de erva doce K e Q. Foram identificadas 4 substâncias em cada amostra.

Quadro 2. Compostos identificados nas duas amostras comerciais de erva doce.

<b>ERVA DOCE K</b>				
<b>Pico</b>	<b>Substâncias prováveis</b>	<b>IR calc</b>	<b>IR lit</b>	<b>% relativa</b>
<b>1</b>	Metil chavicol	1212	1195	0,92
<b>2</b>	Z-anethol	1268	1249	0,45
<b>3</b>	E-anethol	1307	1282	97,82
<b>4</b>	E-pseudoisoeugenyla-2-metilbutirate	1865	1841	0,80
<b>ERVA DOCE Q</b>				
<b>Pico</b>	<b>Substâncias prováveis</b>	<b>IR calc</b>	<b>IR lit</b>	<b>% relativa</b>
<b>1</b>	Metil chavicol	1212	1195	0,92
<b>2</b>	Z-anethol	1268	1249	0,35
<b>3</b>	E-anethol	1304	1282	97,56
<b>4</b>	E-pseudoisoeugenyla-2-metilbutirate	1865	1841	1,17

Fonte: Instituto Agronômico de Campinas - IAC

No Quadro 3 são apresentadas as substâncias identificadas nas amostras comerciais de cravo-da-índia X e Y. Foram identificadas apenas 2 substâncias presentes nas amostras.

Quadro 3. Substâncias identificadas nas duas amostras comerciais de cravo-da-índia.

<b>CRAVO X</b>				
<b>Pico</b>	<b>Substâncias prováveis</b>	<b>IR calc</b>	<b>IR lit</b>	<b>% relativa</b>
<b>1</b>	Eugenol	1413	1356	93,30
<b>2</b>	Acetato de eugenol	1561	1521	6,70
<b>CRAVO Y</b>				
<b>Pico</b>	<b>Substâncias prováveis</b>	<b>IR calc</b>	<b>IR lit</b>	<b>% relativa</b>
<b>1</b>	Eugenol	1413	1356	91,34
<b>2</b>	Acetato de eugenol	1561	1521	8,66

Fonte: Instituto Agronômico de Campinas - IAC

## 4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 4.1 Material Vegetal

A canela (*Cinnamomum verum*) produz principalmente óleos de folhas e cascas, que são usados em perfumaria, especiarias e aromatizantes, sendo o principal componente do óleo essencial da folha o eugenol, e do óleo da casca, o cinamaldeído. Além disso, estudos indicaram que na canela, dependendo de suas variedades, podem ser registrados

de 2,7 a 2,8% de óleo essencial e 10% de óleo resina nas cascas e cerca de 3% de óleo das folhas.

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é colhido na forma de botão floral maduro e comercializado na forma de botão floral seco, e é produzido pouco óleo essencial do botão, embora sua procura seja grande. O botão contém 17% de óleo essencial e o talo que o acompanha contém 4,5 – 6,0%. O principal componente do óleo de cravo é geralmente considerado como eugenol seguido pelo  $\beta$ -cariofileno.

A erva doce (*Pimpinella anisum L.*) é uma planta aromática da família Apiaceae. É uma erva anual nativa do Oriente, e seus frutos são chamados de sementes de anis e contêm de 1 a 4% de óleo essencial, sendo o (E)-anetol o principal componente (75-95%). O rendimento e o conteúdo de (E)-anetol do anis são afetados pelo genótipo, pelas condições ecológicas e principalmente pelas práticas agrícolas, como a época de semeadura, fertilizantes, aplicação de água e densidade da planta.

Assim, como essas especiarias são utilizadas comumente na produção de perfumarias e aromatizantes, além de fazerem parte do comércio alimentício, foram extraídos e analisados seus óleos essenciais para descobrir, principalmente, adulterações no produto ou em seus processos.

## **4.2 Preparação do material vegetal**

As especiarias como canela (*Cinnamomum verum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e erva doce (*Pimpinella anisum L.*) são facilmente encontradas em supermercados em embalagens a vácuo. Sendo assim, as seis amostras foram deixadas nas embalagens até o dia da extração dos óleos para evitar adulterações externas.

## **4.3 Preparo das amostras**

### **4.3.1 Obtenção de óleos essenciais de *Cinnamomum verum***

A canela (*Cinnamomum verum*) tem como principal componente do óleo essencial da folha o eugenol, e do óleo da casca, o cinamaldeído, sendo registrados em estudos de 2,7 a 2,8% de óleo essencial e 10% de óleo resina nas cascas e cerca de 3% de óleo das folhas). O processo de extração de óleo essencial utilizado foi a hidrodestilação por Clevenger, que é considerado o processo mais eficiente na obtenção de óleos essenciais,

pois permite uma extração limpa de solventes tóxicos e livre de subprocessos que poderiam permitir perda de material ou até sua contaminação.

Foram realizadas duas extrações de óleos essenciais dessa especiaria (marcas Z e W) no laboratório da Universidade do Sagrado Coração (Unisagrado) em Bauru/SP, sendo que cada extração demorou em torno de uma hora para a obtenção do hidrolato.

#### **4.3.2 Obtenção de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum***

O botão do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) contém 17% de óleo essencial e o talo que o acompanha contém 4,5 – 6,0%, tendo como principal componente do óleo o eugenol seguido pelo  $\beta$ -cariofileno. O processo de extração de óleo essencial utilizado foi a hidrodestilação por Clevenger, que permite uma extração mais limpa de solventes tóxicos e livre de subprocessos que poderiam prejudicar o material.

Foram realizadas duas extrações de óleos essenciais dessa especiaria (marcas X e Y) no laboratório da Universidade do Sagrado Coração (Unisagrado) em Bauru/SP, sendo que cada extração demorou em torno de uma hora para a obtenção do óleo essencial.

#### **4.3.3 Obtenção de óleos essenciais de (*Pimpinella anisum L.*)**

A erva doce (*Pimpinella anisum L.*) contém de 1 a 4% de óleo essencial, sendo o (E)-anetol o principal componente (75-95%). Porém, o rendimento e o conteúdo de (E)-anetol do anis são afetados pelo genótipo, pelas condições ecológicas e principalmente pelas práticas agrícolas. O processo de extração de óleo essencial utilizado foi a hidrodestilação por Clevenger, que é considerado o processo mais eficiente na obtenção de óleos essenciais, que permite uma extração livre de solventes tóxicos e subprocessos que poderiam permitir perda de material ou até sua contaminação.

Foram realizadas duas extrações de óleos essenciais dessa especiaria (marcas K e Q) no laboratório da Universidade do Sagrado Coração (Unisagrado) em Bauru/SP, sendo que cada extração demorou em torno de uma hora para a obtenção do hidrolato.

A Figura 23 mostra o processo de extração dos óleos essenciais das especiarias.

Figura 23. Processo de extração dos óleos essenciais.



**Fonte:** o próprio autor

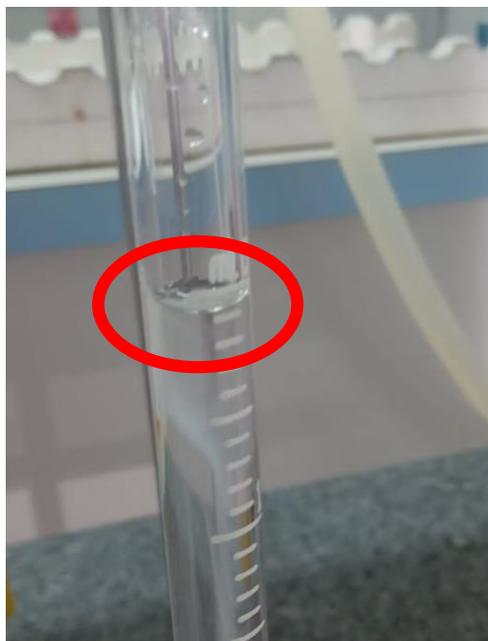
A Tabela 1 apresenta os valores de massas das especiarias utilizadas em cada processo e as respectivas massas de óleos essenciais e hidrolatos obtidos. Os rendimentos de óleos essenciais obtidos mostram que apenas das amostras de cravo-da-índia extraíram-se óleos essenciais, sendo o cravo da marca Y o mais rentável. Em relação aos hidrolatos, a canela foi a especiaria que rendeu menos devido à sua forma, em pó, que dificultou a extração.

**Tabela 1.** Resultado dos rendimentos dos óleos essenciais e hidrolatos

Massa de início	Amostras	Massa	Material obtido
10g	Cravo X	0,5683g	Óleo essencial
10g	Cravo Y	1,2983g	Óleo essencial
10g	Canela Z	0,3500g	Hidrolato
10g	Canela W	0,3000g	Hidrolato
10g	Erva doce K	0,4800g	Hidrolato
10g	Erva doce Q	0,4200g	Hidrolato

Na Figura 24, pode-se observar o início da formação do óleo essencial na parte superior.

Figura 24. Início da formação do óleo essencial



Fonte: o próprio autor

Os óleos essenciais e hidrolatos de *Cinnamomum verum*, cravo-da-índia *Syzygium aromaticum* e erva doce *Pimpinella anisum L.* das seis amostras foram pesados, armazenados e identificados. As amostras de óleos foram encaminhadas pelo Dr. Marcelo Telascrea, em dezembro/2021, ao Instituto Agronômico de Campinas (IAC) - Fazenda Santa Elisa, no Centro de Recursos Genéticos Vegetais sob responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques, onde as análises por Cromatografia Gasosa acoplada Espectrometria de Massas (CG-EM) e Índices de Retenção serão realizados. Posteriormente, as análises dos resultados foram feitas no Centro Universitário do Sagrado Coração de Bauru.

#### **4.4 Obtenção dos espectros de massa**

A utilização de óleos essenciais de plantas é difundida desde perfumes e fragrâncias, até especiarias e medicamentos. As pesquisas variam desde muito aplicadas, como no caso do controle de qualidade de sucos de frutas, até estudos acadêmicos

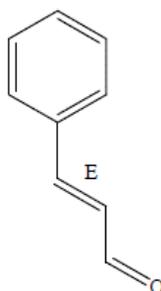
envolvendo a coevolução inseto-planta. Muitos dos componentes dos óleos essenciais de plantas são comuns a muitas espécies.

O objetivo principal deste projeto foi a proposta da análise dos óleos essenciais de canela, erva doce e cravo-da-índia como forma de avaliação de uma potencial adulteração nestas especiarias através da comparação entre dados teóricos com os práticos. Independente da adulteração ser ou não intencional, a identificação dos componentes de óleos essenciais permite uma avaliação mais precisa da matéria-prima (*fingerprint*), portanto, a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) e o cálculo dos índices de retenção (IR) são as técnicas indicadas para análise e identificação de produtos aromáticos que contenham óleos essenciais (ADAMS, 2012).

#### 4.4.1 Canela (*Cinnamomum verum*)

As duas amostras comerciais estudadas (Z e W) apresentaram como componente majoritário o isômero E-cinamaldeído (Figura 7) com 97,75% na amostra Z e 98,65% na amostra W. O E-cinamaldeído tem fórmula molecular  $C_9H_8O$  (Massa molar de 132 g/mol) e pode ser chamado também de *trans*-3-fenilpropenal (Figura 25). Os espectros de massa obtidos para o componente majoritário e os espectros do banco de dados NIST encontram-se no final do relatório em Anexos.

Figura 25. Estrutura do E-cinamaldeído



Fonte: ADAMS (2012)

A canela produz principalmente no óleo essencial de cascas o cinamaldeído, corroborando com os dados obtidos na prática neste trabalho. SENANAYAKE e colaboradores (1978) identificaram cerca de 32 componentes do óleo de canela, onde o cinamaldeído (75,0%) foi o principal composto encontrado na casca (KRISHNAMOORTHY et al. 1996). Portanto, as amostras comerciais de canela Z e W são de origem confiável e estão de acordo com os dados da

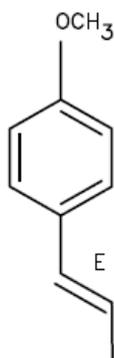
literatura não ocorrendo adulteração. A identificação dos componentes com teores iguais ou inferiores a 1% mostraram uma pequena variação entre as amostras Z e W. O rendimento e o conteúdo podem ser afetados pelo genótipo, pelas condições ecológicas e principalmente pelas práticas agrícolas, como a época de semeadura, fertilizantes, aplicação de água e densidade da planta. Estes fatores justificam as variações aqui observadas (SAIBI, BELHADJ e BENYOUSSEF, 2012).

#### 4.4.2 Erva Doce (*Pimpinella anisum*)

As duas amostras comerciais de erva doce K e Q apresentaram como componente majoritário o isômero E-anetol com 97,82 e 97,56%, respectivamente (Figura 26). Os espectros de massa obtidos para o componente majoritário e os espectros do banco de dados NIST encontram-se no final do relatório em Anexos.

O E-anetol tem fórmula molecular igual a  $C_{10}H_{12}O$  (Massa molar 148 g/mol) e pode ser chamado também de *trans*-4-(1-propenil)-anisol ou *trans*-*p*-metoxi- $\beta$ -metilestireno. Foram detectados outros componentes, mas em teores iguais ou menores a 1%.

Figura 26. Estrutura do E-anetol.



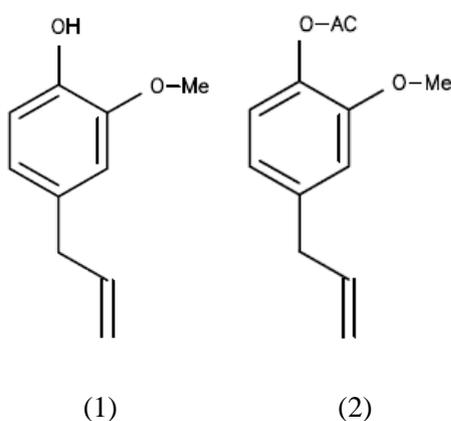
Fonte: ADAMS (2012)

De acordo com a literatura o óleo essencial da erva doce contém de 1 a 4% de óleo essencial, sendo o E-anetol é o componente principal (75-95%), lembrando que podem ser detectados outros componentes (SAIBI, BELHADJ e BENYOUSSEF, 2012). Portanto, as amostras comerciais de erva doce K e Q são de origem confiável e estão de acordo com os dados da literatura não ocorrendo adulteração.

#### 4.4.3 Cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*)

Nas amostras comerciais de cravo-da-índia X e Y foram identificados apenas dois componentes: eugenol e o acetato de eugenol. Os espectros de massa obtidos para os componentes majoritários e os espectros do banco de dados NIST encontram-se no final do relatório em Anexos. Nas amostras comerciais X e Y foram encontrados 93,30 e 91,34% de eugenol e 6,70 e 8,66% de acetato, respectivamente. O eugenol tem fórmula molecular  $C_{10}H_{12}O_2$  (Massa molar 164 g/mol) e pode ser chamado também de 4-alilguaiacol. O acetato de eugenol tem fórmula molecular  $C_{12}H_{14}O_3$  (Massa molar 206g/mol) e pode ser chamado também de acetileugenol (Figura 27).

Figura 27. Estrutura do eugenol (1) e do acetato de eugenol (2).



Fonte: ADAMS (2012)

O óleo essencial do botão do cravo contém 17% de óleo essencial e o talo que o acompanha contém 4,5 – 6,0%. O principal componente do óleo de cravo é geralmente considerado como eugenol seguido pelo  $\beta$ -cariofileno, que não foi encontrado nas amostras comerciais estudadas aqui (BARROS et al., 2018). A única alteração observada entre os dados da literatura e os obtidos para as amostras comerciais é a presença do acetato de eugenol, que é um derivado acetilado que pode ser obtido através da reação de acetilação do eugenol com anidrido acético via catálise química ou enzimática (LAROQUE, 2014). Portanto, as amostras comerciais de cravo-da-índia X e Y são de origem confiável e estão de acordo com os dados da literatura não ocorrendo adulteração.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo e comparação dos perfis de óleos essenciais em amostras comerciais de canela, cravo-da-índia e erva doce por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas demonstrou que as seis amostras comerciais dessas especiarias são de origem confiável, já que estão de acordo com a literatura e não ocorrem adulterações.

Nos hidrolatos da canela (amostras Z e W) cujo componente principal é o isômero E-cinamaldeído, a diferença entre sua quantidade da amostra Z para W foi de 0,90%. Porém, índices menores de 1,0% podem ser desconsiderados e, tal variação pode ser afetada pelo genótipo, pelas condições ecológicas e práticas agrícolas, como a época de semeadura, fertilizantes, aplicação de água e densidade da planta.

Nos óleos essenciais de cravo-da-índia (amostras X e Y) cujo componente principal é o eugenol, a diferença entre sua quantidade da amostra Y para X foi de 1,96%. A única diferença entre os dados da literatura e o resultado das análises é a presença de acetato de eugenol, porém sem influência em adulterações consideráveis.

Nos hidrolatos de erva doce (amostras K e Q) cujo componente principal é o isômero E-anetol, a diferença entre sua quantidade da amostra K para Q foi de 0,26%. Também podem ser detectados outros componentes, mas eles não tem influência em adulterações consideráveis.

Portanto, a comparação dos perfis de óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa detectou os principais componentes das amostras de canela, cravo-da-índia e erva-doce, além de suas respectivas quantidades, o que faz com que os produtos sejam considerados confiáveis por estarem de acordo com os dados da literatura e sem adulterações consideráveis, mesmo detectando outros componentes em menor quantidade.

## 6. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic press, 2012.

ADAMS, R. P.; Identification of Essential Oil by Ion Trap Mass Spectroscopy, Academic Press: San Diego, 1995.

AREFIN, Aishawarya et al. Study on Awareness about Food Adulteration and Consumer Rights among Consumers in Dhaka, Bangladesh. Journal of Health Science Research, p. 69-76, 2020.

BANSAL, Sangita et al. Food adulteration: Sources, health risks, and detection methods. Critical reviews in food science and nutrition, v. 57, n. 6, p. 1174-1189, 2017.

BARROS GOMES, Paulo Roberto et al. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.

BOGUSZ, Maciej J. et al. Application of LC–ESI–MS–MS for detection of synthetic adulterants in herbal remedies. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 41, n. 2, p. 554-564, 2006.

BLANCH, Gracia P. et al. Comparison of different methods for the evaluation of the authenticity of olive oil and hazelnut oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 46, n. 8, p. 3153-3157, 1998.

BRITISH RETAIL CONSORTIUM. BRC Global Standard: Food. The Stationery Office, 2005.

BRUCKER, Mary C.; KING, Tekoa L. The 2015 US Food and Drug Administration pregnancy and lactation labeling rule. *Journal of midwifery & women's health*, v. 62, n. 3, p. 308-316, 2017.

CALABRESE, Massimo; STANCHER, Bruno; RICCOBON, Patrizia. High-performance liquid chromatography determination of proline isomers in Italian wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 69, n. 3, p. 361-366, 1995.

CRANDALL, Philip G.; O'BRYAN, Corliss A. Global food safety initiative: implementation and perspectives. In: *Food safety*. Academic Press, 2015. p. 3-8.

CLEVINGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), v. 17, n. 4, p. 345-349, 1928a.

CLEVINGER, J. F. Report on (the analysis of) fluidextract of ginger. *Assoc Off Agric Chem J*, v. 17, p. 346-349, 1928b.

DANEZIS, Georgios P. et al. Food authentication: state of the art and prospects. *Current Opinion in Food Science*, v. 10, p. 22-31, 2016.

DEREK, L. Eight toxic foods: a little chemical education. 2015.

EVERSTINE, Karen et al. Development of a hazard classification scheme for substances used in the fraudulent adulteration of foods. *Journal of food protection*, v. 81, n. 1, p. 31-36, 2018.

FILODA, Paula Freitas et al. Fast methodology for identification of olive oil adulterated with a mix of different vegetable oils. *Food Analytical Methods*, v. 12, n. 1, p. 293-304, 2019.

GAHUKAR, R. T. Food adulteration and contamination in India: occurrence, implication and safety measures. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 3, n. 1, p. 47, 2014.

GAHUKAR, R. T. Are Indian foods from genetically modified crops safe?. *JOURNAL OF FOOD AGRICULTURE AND ENVIRONMENT*, v. 2, p. 11-13, 2004.

- GOSSNER, Céline Marie-Elise et al. The melamine incident: implications for international food and feed safety. *Environmental health perspectives*, v. 117, n. 12, p. 1803-1808, 2009.
- HAUGHEY, Simon A. et al. The application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to detect melamine adulteration of soya bean meal. *Food Chemistry*, v. 136, n. 3-4, p. 1557-1561, 2013.
- HUANG, Yue et al. Identification of additive components in powdered milk by NIR imaging methods. *Food chemistry*, v. 145, p. 278-283, 2014.
- HERNANDEZ, P. E. et al. Antibody-based analytical methods for meat species determination and detecting adulteration of milk. *Food and Agricultural Immunology*, v. 6, n. 1, p. 95-104, 1994.
- JANARDHANA, G. R.; RAVEESHA, K. A.; SHETTY, H. Shekar. Mycotoxin contamination of maize grains grown in Karnataka (India). *Food and chemical toxicology*, v. 37, n. 8, p. 863-868, 1999.
- JAISWAL, P. K. Common adulterants/contaminants in food and simple screening tests for their detection. Central AGMARK Laboratories, Nagpur, India, 2011.
- KALIVAS, John H. et al. Food adulteration analysis without laboratory prepared or determined reference food adulterant values. *Food chemistry*, v. 148, p. 289-293, 2014.
- KRISHNAMOORTHY, B. et al. Navashree and Nithyashree-two new high yielding and high-quality cinnamon (*Cinnamomum verum* Bercht & Presl.) selections. *J. spices and Aromatic Crops*, v. 5, n. 1, p. 28-33, 1996.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, Anna; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. *Bee world*, v. 59, n. 4, p. 139-157, 1978.
- MAJUMDAR, Sanhita. Food hazards and food security. *Everyman's Science*, v. 64, p. 348-355, 2010.
- MANGAL, Manisha; BANSAL, Sangita; SHARMA, Mamta. Macro and micromorphological characterization of different *Aspergillus* isolates. *Legume Research-An International Journal*, v. 37, n. 4, p. 372-378, 2014.
- MILDNER-SZKUDLARZ, Sylwia; JELEŃ, Henryk H. The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive oil with hazelnut oil. *Food Chemistry*, v. 110, n. 3, p. 751-761, 2008.
- MOULY, Pierre; GAYDOU, Emile M.; AUFRAY, Alain. Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography. *Journal of chromatography A*, v. 800, n. 2, p. 171-179, 1998.
- MCLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D.; *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, John Wiley Sons: New York, 1989.

NICOLAOU, N.; XU, Y.; GOODACRE, R. Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 12, p. 5651-5660, 2010.

NOGUEIRA, J. M. F.; NASCIMENTO, A. M. D. Analytical characterization of Madeira wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 47, n. 2, p. 566-575, 1999.

OHE, K. Scanning electron microscopic studies of pollen from apple varieties. *Acta Horticulturae (Netherlands)*, 1991.

OLIVEIRA, Rafael CS et al. Evaluation of the potential of SPME-GC-MS and chemometrics to detect adulteration of ground roasted coffee with roasted barley. *Journal of Food Composition and analysis*, v. 22, n. 3, p. 257-261, 2009.

OZEN, Banu F.; MAUER, Lisa J. Detection of hazelnut oil adulteration using FT-IR spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 50, n. 14, p. 3898-3901, 2002.

RAHMAN, Md Arifur et al. Food adulteration: A serious public health concern in Bangladesh. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2015.

RUIZ-MATUTE, Ana I. et al. A new methodology based on GC-MS to detect honey adulteration with commercial syrups. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 55, n. 18, p. 7264-7269, 2007.

SEZER, Banu et al. Detection of Pistacia vera adulteration by using laser induced breakdown spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 99, n. 5, p. 2236-2242, 2019.

SENANAYAKE, Upali M.; LEE, Terence H.; WILLS, Ronald BH. Volatile constituents of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 26, n. 4, p. 822-824, 1978.

SHAW, Pang-Chui; WANG, Jun; BUT, Paul PH. Authentication of Chinese medicinal materials by DNA technology. World Scientific, 2002.

SHEOREY, Rahul Ranjan; TIWARI, Archana. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of herbal materials and medicines—A review. 2011.

SIDDIQUI, Md Wasim; DHUA, R. S. Eating artificially ripened fruits is harmful. *Current science*, p. 1664-1668, 2010.

SINGH, MONISHA; SRIVASTAVA, SANGITA. Prevent food adulteration to save your kidney. *Int. J. App. Home Sci*, v. 3, n. 5, p. 241-248, 2016.

SILVA, B. M. et al. Analysis of phenolic compounds in the evaluation of commercial quince jam authenticity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 7, p. 2853-2857, 2000.

SPAARGAREN, Gert; OOSTERVEER, Peter; LOEBER, Anne (Ed.). Food practices in transition: changing food consumption, retail and production in the age of reflexive modernity. Routledge, 2013.

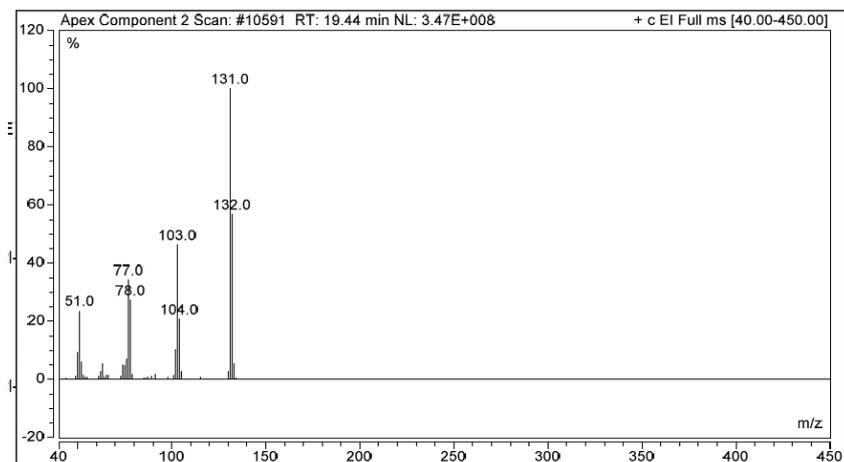
- SRIVASTAVA, Yashi; SRIVASTAVA, Garima. Global Perspective of Sensors for the Detection of Food Adulterants. *Biotechnological Approaches in Food Adulterants*, p. 239, 2020.
- SUDERSHAN, R. V. et al. Food safety research in India: a review. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, v. 2, n. 3, p. 412-433, 2009.
- SUDERSHAN, R. V.; BHAT, Ramesh V. A survey on veterinary drug use and residues in milk in Hyderabad. *Food Additives & Contaminants*, v. 12, n. 5, p. 645-650, 1995.
- SUBBANNAYYA, K. et al. How safe is sugarcane juice?. *Indian journal of medical microbiology*, v. 25, n. 1, p. 73-74, 2007.
- SUMAR, S.; ISMAIL, H. Adulteration of foods—past and present. *Nutrition & Food Science*, 1995.
- TELASCREA, M., ARAÚJO, C. C. D., CAVALHEIRO, A. J., MARQUES, M. O., FACANALI, R., & DE MORAES, P. L. Essential oils from leaves of *Cryptocarya* spp from the atlantic rain forest. *Química Nova*, 31(3), 503-507, 2008.
- TIMSORN, Kriengkri; LORJAROENPHON, Yaowapa; WONGCHOOSUK, Chatchawal. Identification of adulteration in uncooked Jasmine rice by a portable low-cost artificial olfactory system. *Measurement*, v. 108, p. 67-76, 2017.
- VAN DEN DOOL, H. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A*, v. 11, p. 463-471, 1963.
- WEN, Zai-Qing et al. ADULTERATION DETECTION-Assessment of Spectroscopic Techniques for Adulteration Detection of Raw Materials Used in Biopharmaceutical Manufacturing. *American Pharmaceutical Review*, v. 15, n. 1, p. 26, 2012.
- WILHELMSSEN, Eric C. Adulteration determination. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*, 2006.
- XIU, Changbai; KLEIN, K. K. Melamine in milk products in China: Examining the factors that led to deliberate use of the contaminant. *Food policy*, v. 35, n. 5, p. 463-470, 2010.
- YU, Yunxin et al. Accuracy and stability improvement in detecting Wuchang rice adulteration by piece-wise multiplicative scatter correction in the hyperspectral imaging system. *Analytical Methods*, v. 10, n. 26, p. 3224-3231, 2018.
- ADAMS, Robert P. et al. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. *Carol Stream: Allured publishing corporation*, 2017.
- LAROQUE, Denise Adamoli et al. Óleo de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) como substrato para a síntese de acetato de eugenila via catálise heterogênea em sistema livre de solvente. 2014.

SENANAYAKE, Upali M.; LEE, Terence H.; WILLS, Ronald BH. Volatile constituents of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 26, n. 4, p. 822-824, 1978.

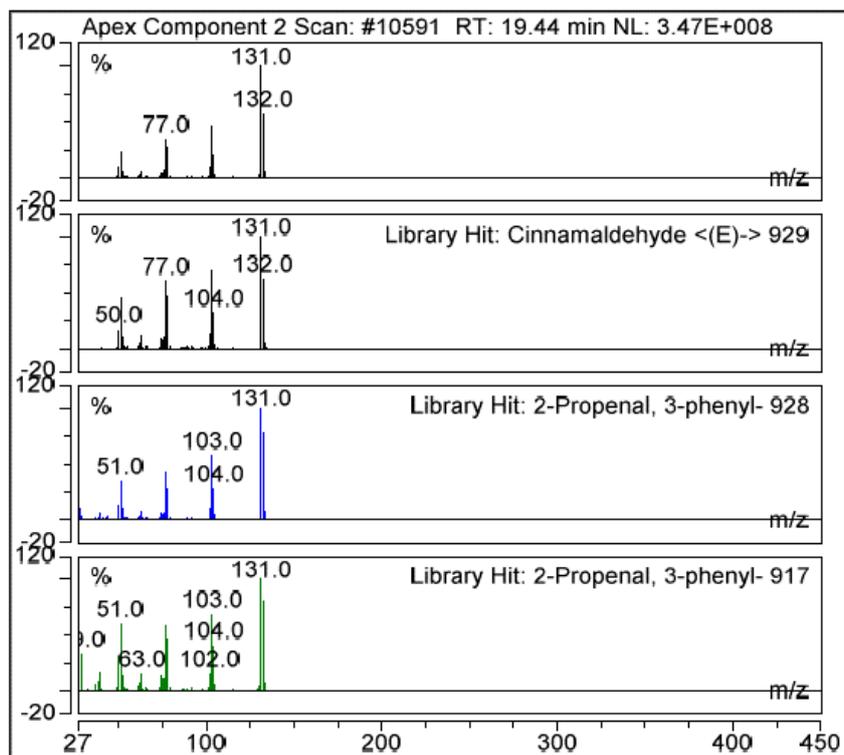
KRISHNAMOORTHY, B. et al. Navashree and Nithyashree-two new high yielding and high quality cinnamon (*Cinnamomum verum* Bercht & Presl.) selections. *J. spices and Aromatic Crops*, v. 5, n. 1, p. 28-33, 1996.

SAIBI, Sabrina; BELHADJ, Mustapha; BENYOUSSEF, El-Hadi. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* from Algeria. *Analytical Chemistry Letters*, v. 2, n. 6, p. 401-404, 2012.

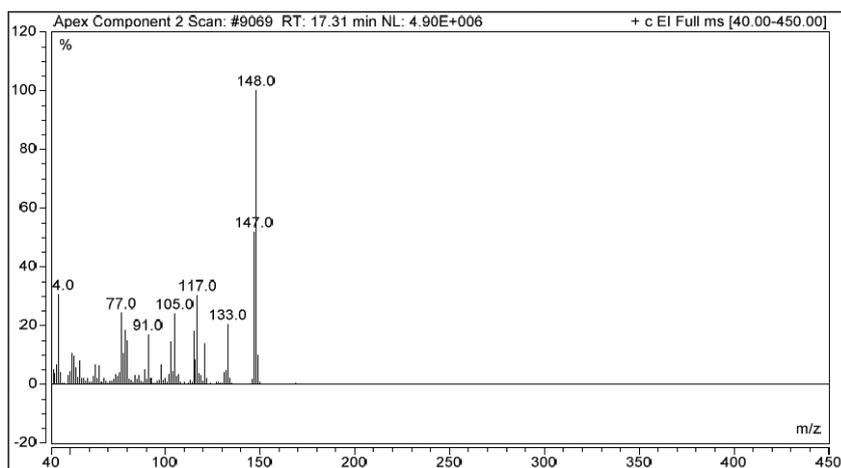
## ANEXO I – ESPECTRO CINAMALDEÍDO (experimental).



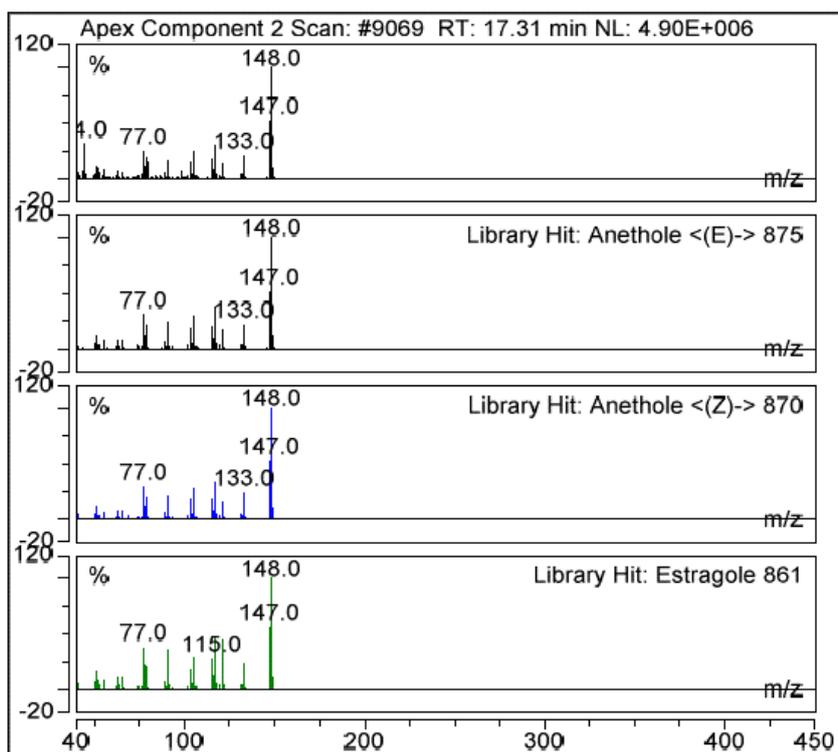
## ANEXO II – ESPECTRO CINAMALDEÍDO (base de datos NIST 62).



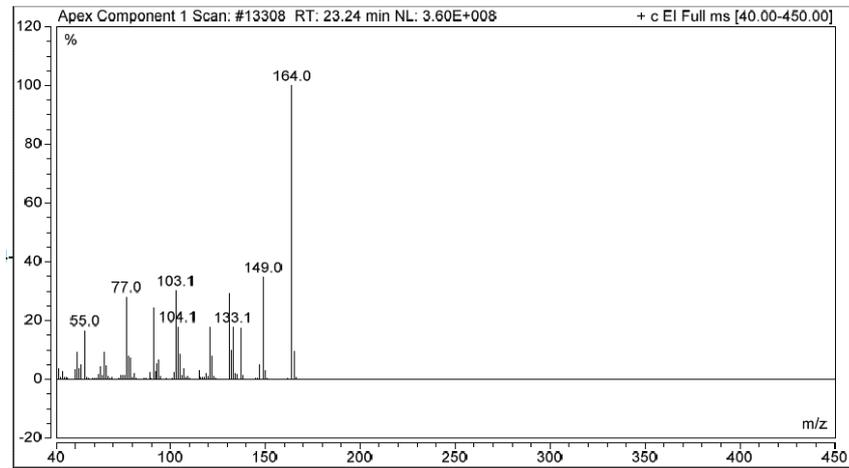
### ANEXO III – ESPECTRO E-ANETOL (experimental).



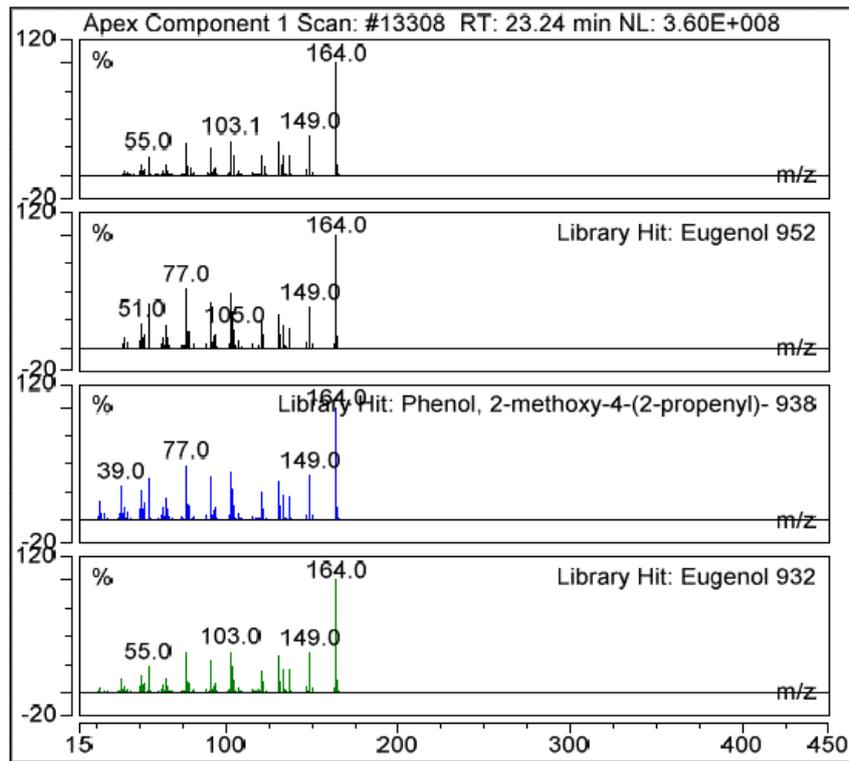
### ANEXO IV – ESPECTRO E-ANETOL (base de datos NIST 62).



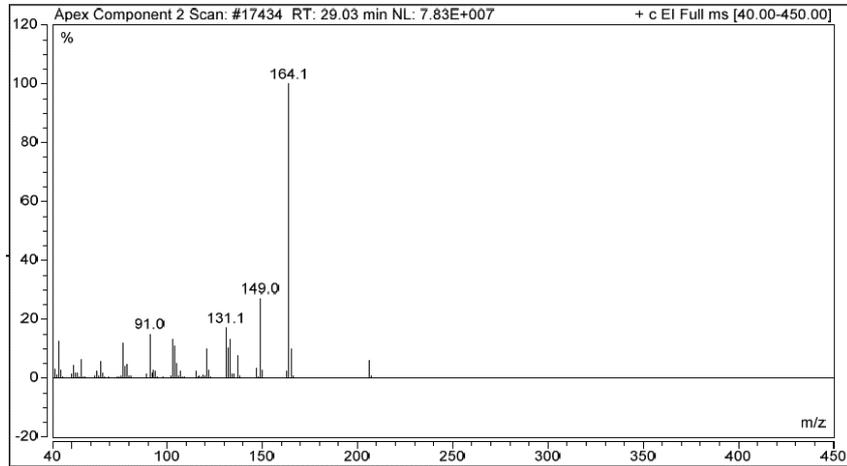
**ANEXO V – ESPECTRO EUGENOL (experimental).**



**ANEXO VI – ESPECTRO EUGENOL (base de datos NIST 62).**



**ANEXO VII – ESPECTRO ACETATO DE EUGENOL (experimental).**



**ANEXO VIII – ESPECTRO ACETATO DE EUGENOL (base de datos NIST 62).**

