



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
FACULDADE DE QUÍMICA

SANDY DOS SANTOS ROCHA

**ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEO RESINA E ESSENCIAL DE COPAÍBA E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOHERBICIDA FRENTE AO CAPIM ANNONI**

MARABÁ - PA

2023

SANDY DOS SANTOS ROCHA

**ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEO RESINA E ESSENCIAL DE COPAÍBA E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOHERBICIDA FRENTE AO CAPIM ANNONI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará-Unifesspa, como requisito parcial, necessários para obtenção do Grau de Licenciatura em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Yasue Simote Silva

MARABÁ – PA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Biblioteca Setorial Campus do Tauarizinho

R632e Rocha, Sandy dos Santos
Estudo químico de óleo resina e essencial de copaíba e avaliação do potencial bioherbicida frente ao capim annoni / Sandy dos Santos Rocha. — 2023.

Orientador(a): Simone Yasue Simote Silva.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Ciências Exatas, Faculdade de Química, Curso de Licenciatura Plena em Química, Marabá, 2023.

1. Química vegetal. 2. Plantas oleaginosas - Amazônia. 3. Copaíba. 4. Essências e óleos essenciais. I. Silva, Simone Yasue Simote, orient. II. Título.

CDD: 22. ED.: 633.8509811

SANDY DOS SANTOS ROCHA

**ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEO RESINA E ESSENCIAL DE COPAÍBA E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOHERBICIDA FRENTE AO CAPIM ANNONI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará-Unifesspa, como requisito parcial, necessários para obtenção do Grau de Licenciatura em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Yasue Simote Silva

Data de Aprovação:

Conceito:

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Simone Yasue Simote Silva
Orientadora – FAQUIM/ICE/UNIFESSPA

Profa. Dra. Marilene Nunes Oliveira
Membro - FAQUIM/ICE/UNIFESSPA

Prof. Dr. Sebastião da Cruz Silva
Membro - FAQUIM/ICE/UNIFESSPA

MARABÁ – PA
2023

“O importante é não parar de questionar; a curiosidade tem sua própria razão de existir”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Á Deus, que me deu forças e ânimo para passar pelos obstáculos e dificuldades da vida cotidiana e acadêmica. Obrigada Senhor, por ter me abençoado com oportunidades e ter cuidado dos meus passos, mesmo eu estando confusa na maior parte do caminho. Obrigada pela minha existência.

Aos meus pais Moisés de Sousa Rocha e Clerivania dos Santos Rocha, por todo carinho, dedicação e amor, por me ensinarem a trilhar o caminho do bem, me apoiarem incondicionalmente a seguir na graduação. Sou grata pelos cuidados, pela vida honesta que me proporcionaram, por sempre terem zelado pela minha educação, por todo colo, conselho e incentivo que me acalentou nessa jornada, sempre serão o lar e os exemplos do meu coração, amo tanto vocês.

Ao meu irmão Thalys dos Santos Rocha, por fazer parte das alegrias e dificuldades desses anos, por todo cuidado, carinho e chatice comigo, por ser exemplo de dedicação pelo que se é proposto fazer, amo muito você. E não poderia deixar de lembrar dos meus cachorros de estimação, que tanto me trouxeram alegria e um amor sem explicação, especialmente nos tempos de pandemia de covid-19, vocês Benjamim, Milla, Lunna, Luar, Thor e Apollo *in memoriam*, foram meu chão em meio aos tantos sentimentos confusos e de perda durante o confinamento, amo-os incondicionalmente.

Agradeço imensamente o cuidado e motivação por parte dos meus familiares próximos e de consideração que sempre me ajudaram sem hesitar, principalmente com as caronas nessas estradas, as vezes um segundo lar e momentos aconchegantes de conselho e descontração, em especial aos meus tios, Antônio Rocha, Joana Rocha, João Rocha, Adenisa Rocha, Lúcia Ribeiro, Idalina Costa, tios Joaquim Rocha e Marinalva Rocha *in memoriam*... eu sinto tanta saudade. As minhas primas Aline Rocha, Patrícia Rocha, Jaine Rocha e Suelledy Rocha, pelos momentos alegres de conversações da vida acadêmica, também a todos que sabem do meu apreço e carinho por contribuírem diretamente e indiretamente na minha vida nessa etapa.

Sou grata as únicas amigas que permaneceram, principalmente após o início da minha graduação, que torceram por mim sem recessos, vocês são especiais na minha vida, Lourrany Ondina e Roberth Souza, por trazerem cor para meu pequeno mundinho interior e mostrarem que a vida não é apenas resultados de notas em um papel, mas que pode ser um doce abraço e um futuro cheio de possibilidades.

Me alegro em exaltar o companheirismo dos colegas que ganhei na UNIFESSPA, em especial meu grupo de trabalho mais recorrente, Lanielle Carneiro, Caroline Alecrim, Elivelton Pereira e Mattheus Silva que dividiram comigo não apenas os trabalhos das disciplinas, mas também alguns momentos fora das salas de aula, carregados de conhecimentos e incentivos. Aos amigos e colegas da 2018 e demais turmas que tive a satisfação de participar, pela alegria de dividir não somente a graduação, mas também pela reciprocidade da perseverança de novas conquistas.

Aos colegas Wendel Lisboa, Airton Júnior e a aluna de pós-graduação Dra. Joseila Maldaner, por todo auxílio. Ao técnico e colegas dos laboratórios de ensino e análises da UNIFESPA.

À UNIFESSPA/ICE/FAQUIM por serem o pilar dessa realização, pela construção da minha vida profissional, regada de diferentes experiências transmitidas desde os funcionários de segurança, limpeza, manutenção e colaboração até os docentes que compõem o curso de química. Singularmente os professores que fizeram a diferença na minha graduação por seus conhecimentos e competências, das quais guardo admiração e gratidão.

A professora Dra. Marilene Oliveira, pela sua admirável forma de ensinar, sua atenção e dedicação desde meu tempo de caloura e claro, sua contribuição ao longo da bolsa de iniciação científica até o trabalho de conclusão de curso. Ao professor Dr. Sebastião Silva, por sua paciência ao ensinar as bases da licenciatura e da química, pela sua maneira de compreender as dificuldades enfrentadas pelos discentes dentro da graduação, foi de suma importância na reta final dessa etapa.

A professora Dra. Adriane Damasceno, com a qual tive a oportunidade de desenvolver o Pibid de Química, que foi uma oportunidade cheia de experiências importantes para a docência, além do conhecimento repleto de autenticidade e alegria. Ao professor Dr. Claudio Emídio, pela sua notável paciência, senso de humor, acolhimento e conhecimentos metodológicos para a prática docente, obrigada pela “tempestade” de artigos, foi de grande importância. Aos professores Dr. Darlisson de Alexandria e Dr. Paulo de Tarso, pelas suas esplêndidas e firmes formas de ensinar. Ao Dr. Geiso Rafael, Dr. Wagner Alencar, Ms. Clesianu Rodrigues, Dr. Emerson Boscheto, Dr. Francisco Adriano, Dra. Joana Luiza Pires e também os que se fizeram presentes na grade curricular ao longo da minha formação. Estendo-me aos meus professores supervisores de estágio, Ferdinanda Silva, Givanildo Moreira e Bruno Sousa, pela recepção e ensinamentos.

A minha orientadora, a professora Dra. Simone Yasue Simote Silva que está presente desde o primeiro ano de graduação, através do Pibid de química, seguida da iniciação científica. Não tenho palavras para mensurar minha gratidão pelas oportunidades que me proporcionou dentro da universidade, pela sua paciência ao longo desses projetos, por jamais ter me deixado esquecer do trabalho de conclusão de curso. És um exemplo de profissional, que trabalha com carinho, dedicação e senso de humor, especialmente dentro das salas de aula. Obrigada por ter sido uma excelente professora na minha formação e uma excepcional orientadora.

A CAPES por ter proporcionado e financiado as bolsas do Pibid e da Residência Pedagógica, que foram tão importantes para minha formação profissional. Meu agradecimento ao PIBIC/FAPESPA pela oportunidade e fomento da bolsa de iniciação científica, ao ICMBio por conceder as amostras da pesquisa.

Um agradecimento especial aos professores da rede pública de ensino básico, que participaram da minha formação escolar, sou muito grata e alegre sempre em lembrar a importância que tiveram para que eu chegasse até aqui.

E a mim, por ter “continuado”.

RESUMO

O Brasil, conta com uma imensa reserva de espécies vegetais que ainda não foi completamente avaliada, em relação a composição química quanto ao seu potencial. Dentre as várias espécies do território brasileiro destacam-se as do gênero *Copaífera*. Conhecidas popularmente como copaíba, as copaibeiras são encontrados como arbustos ou árvores que chegam a atingir até cerca de 40 m de altura e são fornecedoras de madeira e óleo-resina. Apesar de ser uma espécie amplamente explorada, os estudos do potencial bioherbicida desta espécie são insuficientes. Neste contexto, os óleos resinas e essenciais, obtidos por hidrodestilação, foram caracterizados quanto ao perfil químico (CG-EM), e submetidos a testes bioherbicida (teste de germinação e desenvolvimento de mudas) contra o capimannoni invasor de pastagens na região dos Pampas. A composição química dos óleos resina das 8 amostras analisadas apresentaram composição química semelhante, sendo o carofileno e o farneseno os compostos majoritários. O óleo essencial de copaíba inibiu de forma significativa a germinação e o crescimento inicial do capimannoni, especialmente em concentrações superiores a 1,5%. A inibição da germinação acumulada (GA) do capimannoni foi de cerca de 27% em exposição ao óleo essencial de copaíba, seguido da mortalidade, que foi crescente com o aumento da concentração. Quanto a velocidade de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) foi significativamente reduzido a partir da concentração acima de 1,5%, já o tempo médio de germinação (TMG) foi maior para concentrações acima de 1,0% do óleo essencial de copaíba. Os resultados mostram o óleo essencial de copaíba como um produto bioherbicida muito promissor a ser utilizado na agricultura, substituindo os herbicidas químicos.

Palavras-chaves: Óleo essencial; bioherbicida; capimannoni.

ABSTRACT

Brazil has an immense reserve of plant species that has not yet been completely evaluated, in terms of chemical composition and potential. Among the various species in Brazilian territory, those of the *Copaifera* genus stand out. Popularly known as copaíba, copaibeiras are found as shrubs or trees that reach up to around 40 m in height and are suppliers of wood and oil-resin. Despite being a widely explored species, studies of the bioherbicide potential of this species are insufficient. In this context, the resin and essential oils, obtained by hydrodistillation, were characterized in terms of their chemical profile (GC-MS), and subjected to bioherbicide tests (germination test and seedling development) against the Annoni grass invasive of pastures in the region of Pampas. The chemical composition of the resin oils from the 8 samples analyzed showed a similar chemical composition, with carophyllene and farnesene being the main compounds. Copaiba essential oil significantly inhibited the germination and initial growth of annoni grass, especially at concentrations greater than 1.5%. The inhibition of accumulated germination (GA) of annoni grass was around 27% upon exposure to copaiba essential oil, followed by mortality, which increased with increasing concentration. Regarding germination speed, the germination speed index (IVG) was significantly reduced from concentrations above 1.5%, while the average germination time (TMG) was greater for concentrations above 1.0% of the oil. copaiba essential. The results show copaiba essential oil as a very promising bioherbicide product to be used in agriculture, replacing chemical herbicides.

Keywords: Essential oil; bioherbicide; capim annoni.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa
ICMBio	Instituto Chico Mendes de conservação da Biodiversidade
PA	Pará
OE	Óleo Essencial
ICE	Instituto de Ciências Exatas
ml	Mililitro
°C	Graus celsius
%	Porcentagem
G	Gramma
<i>M</i>	Massa
μg	Micrograma
mg	Miligrama
μL	Microlitro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
m	Metro
Km ²	Quilômetro quadrado
S	Segundo
V	Volume
Min	Minuto
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
GA	Germinação acumulada
IVG	Índice de velocidade de germinação
TMG	Tempo médio de germinação

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Inflorescências de copaibeiras. <i>Copaifera reticulata</i> (A) e da <i>Copaifera martii</i> (B).....	21
Figura 2 – Aparelho extrator Clevenger.....	22
Figura 3 – Capim annoni estabelecido (A) e em desenvolvimento (B) em forma de touceiras, em solos com reduzida cobertura vegetal nativa (C) e suas sementes (D).....	23
Figura 4 – Área de preservação do ICMBio no município de Parauapebas-PA.....	26
Figura 5 – Extração do óleo essencial de copaíba por hidrodestilação.....	27
Figura 6 – Cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas.....	28
Figura 7 – Óleo essencial obtido ao final da extração por hidrodestilação.....	31
Figura 8 – Sobreposição dos cromatogramas dos óleos resinas 1 a 8.....	32
Figura 9 - Cariofileno (A) e α -farneseno (B).....	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Rendimento das extrações dos óleos essenciais de copaíba.....32
- Tabela 2** – Tempo de retenção (min) dos componentes presentes nas amostras de óleos resinas de copaíba.....33
- Tabela 3** – Tempo de retenção (min) dos compostos das amostras de óleos essenciais.....35
- Tabela 4** – Germinação do *Eragrostis plana* em exposição a diferentes concentrações de óleo essencial de copaíba, após dez dias de instalação.....42
- Tabela 5** – Efeitos no crescimento inicial do *Eragrostis plana* em exposição a diferentes concentrações de óleo essencial de copaíba, após dez dias de instalação.....42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Produtos naturais: as plantas medicinais	17
3.2	Copaíba	19
3.2.1	Descrição botânica e composição química.....	19
3.3	Hidrodestilação	22
3.4	O capimannoni (<i>Eragrostis plana</i> Nees)	23
4	METODOLOGIA	25
4.1	Materiais	25
4.1.1	Vidrarias e materiais de uso geral.....	25
4.1.2	Solventes.....	25
4.1.3	Equipamentos	25
4.2	Procedimento experimental	26
4.2.1	Material botânico	26
4.2.2	Extração do óleo essencial de copaíba	27
4.2.3	Análise do óleo fixo e essencial por CG/EM.....	28
4.2.4	Ensaio bioherbicida	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Rendimento da extração do óleo essencial de copaíba	31
5.2	Análise do óleo-resina de copaíba por CG/EM	32
5.3	Análise do óleo essencial de copaíba por CG/EM	35
5.4	Avaliação do potencial bioherbicida do óleo essencial com capimannoni	41
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1 INTRODUÇÃO

As primeiras civilizações utilizavam as plantas com várias finalidades como: aromáticas, ritualísticas e recurso terapêutico. Quando a escrita começou a se difundir pelas principais civilizações, como as babilônicas e sumérias, o uso das plantas começaram a ser transcritas, permitindo que os saberes e o uso das plantas medicinais para o tratamento da saúde e bem-estar fossem passados adiante (SOUZA, 2016).

O Brasil é o lar das maiores diversidades genéticas do mundo e o uso dos recursos naturais da fauna quanto da flora como artifício para o tratamento de doenças, remete-se aos povos indígenas, onde o emprego das plantas medicinais fora transmitido e aperfeiçoado ao longo do tempo. Na Amazônia, onde se encontra aproximadamente 71% das espécies vegetais do país, dentro dela, espécies com substâncias químicas biologicamente ativas, comumente usadas pelos povos nativos, difundidas entre as populações e incentivadas publicamente desde 2006 através da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápico (FIORAVANTI, 2016; SOUZA, 2016). Das plantas medicinais, destaca-se a copaíba, devido às muitas formas de uso e indicações. O gênero *Copaífera* produz um óleo-resina, que é extraído do tronco por meio dos canais secretores (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002; CORREIA, 2017).

O óleo-resina de copaíba, tem como característica um exsudado constituído de 46,9% de uma parte resinosa que não é volátil, de ácidos diterpênicos e a outra parte, 53% formada por óleo essencial de hidrocarbonetos e álcoois sesquiterpênicos (CORREIA, 2017). Podendo haver diferenças quanto às concentrações de óleo-resina produzido pelas copaibeiras e das principais substâncias que os constituem, que possuem diversas atividades podendo ser citadas a atividade inseticida, fungicida, entre outras (OLIVEIRA *et al.*, 2006; BARBOSA, 2012).

As plantas daninhas são um dos principais problemas no cultivo de produtos agrícolas e o principal método de controle é o uso de herbicidas químicos. Embora eficiente, os herbicidas trazem consequências diretas e indiretas que superam os benefícios em muitos casos, abrindo assim caminho para o desenvolvimento de bioherbicidas (PUIG *et al.*, 2019).

Na busca por bioinsumos com potencial biotecnológico, os recursos naturais independente dos biomas relacionados, têm despertado grande interesse, sendo considerados uma fonte potencial para novas descobertas (MORAES *et al.*, 2019).

Neste contexto, este trabalho visa investigar o potencial bioherbicida do óleo essencial de copaíba, na perspectiva de controlar o desenvolvimento de capimannoni, uma espécie invasora das pastagens de vários países, incluindo a região dos Pampas, no sul do Brasil (BERGAMIM; ROSA, 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar o estudo químico do óleo fixo e essencial de copaíba e verificar o potencial bioherbicida deste último, frente ao capim annoni.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a hidrodestilação dos óleos fixo de diferentes copaibeiras;
- Analisar a composição química dos óleos fixos e essenciais de copaíba através da cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas;
- Avaliar o potencial bioherbicida do óleo essencial de copaíba frente ao capim annoni.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produtos naturais: as plantas medicinais

Atualmente os produtos naturais são classificados como um conjunto de vários compostos de origens naturais, que podem ser fungos, plantas, bactérias, insetos ou até organismos marinhos. E os conhecimentos construídos pela humanidade sobre suas variadas finalidades, foram sem dúvidas, um dos motivos que garantiram a satisfação de algumas necessidades básicas das civilizações ao longo da história. Dos produtos naturais, se destacam o reino *plantae*, especialmente as plantas medicinais do qual existem registros nas mais diversas civilizações de sua importância social e cultural para manutenção da vida (SILVA, 2017; BARREIRO; BOLZANI, 2009; SOUZA, 2016).

Quando a escrita começou a se difundir nas crescentes civilizações, os conhecimentos sobre a importância do uso das plantas medicinais na saúde começaram a ser transcritas, possibilitando a continuidade desses conhecimentos. Esses documentos específicos das aplicações das plantas como agentes de cura tinham por designação o nome de farmacopeias, tendo como os registros mais antigos, as farmacopeias babilônicas e sumérias. Que já faziam menção a erva doce, alecrim e açafraão (SOUZA, 2016).

Souza (2016) aponta que existem menções a esses tipos de documentos, na China, onde foram escritos livros importantes como *Pent-Sao* no período de 5.000 A.C, a 2.735 A.C, que destacam plantas como a efedra que possuía ação anti-asmática. Segundo Rocha (2015 apud SOUZA, 2016, p. 26) na Índia durante o período de 2.700 a 1.700 A.C. (Vale do Indo), havia um sistema de medicina baseado em espécies medicinais, onde o Vrikshayurveda listava as plantas mais usadas. Papiros egípcios foram encontrados com dados de mais de 120 plantas e 800 receitas usando plantas como a mirra e ópio. E igualmente nas demais civilizações e períodos conhecidos historicamente, como na Babilônia, Suméria, Grécia antiga, Império Romano, Europa Ocidental, na Idade média, Idade moderna e ao longo dos últimos séculos (SOUZA, 2016).

No Brasil, quando os portugueses chegaram em 1500, a biodiversidade não chamou tanta a atenção dos colonizadores, mas quando os Jesuítas e naturalistas europeus desembarcaram na colônia, se deram ao trabalho de catalogar uma grande parte da biodiversidade vegetal além das práticas e conhecimentos que as populações indígenas tinham das plantas medicinais regionais, apesar de que muitas delas eram relacionadas a crenças e rituais. Através dos registros feitos pelos Jesuítas ao longo dos anos, os conhecimentos

adquiridos pelos indígenas e o uso das plantas medicinais foram aos poucos se popularizando por todo o Brasil (SOUZA, 2016).

Possuindo a maior biodiversidade do mundo, o Brasil detém de aproximadamente 20% da vida existente no mundo distribuídos nos seus biomas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. Nessa perspectiva, é considerada que uma das maiores fontes de produtos naturais com substâncias biologicamente ativas estejam no Brasil, especialmente as plantas medicinais para desenvolvimento de novo fármacos e produtos terapêuticos (BARREIRO; BOLZANI, 2009; BARBOSA, 2012; SILVA, 2017).

Na Amazônia é possível encontrar 71% das espécies vegetais brasileiras (SOUZA, 2016), compreendendo a maior extensão de florestas úmidas do mundo e cobre mais de 5 milhões de Km² do território nacional. Já na “*Gran Amazonía*” ocupa cerca de 7.600 milhões de km² e inclui os países sul-americanos: Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname e Venezuela. E a Amazônia legal, se remete aos estados brasileiros do Acre, Amazonas, Roraima, Rondônia, Tocantins, Amapá, Mato-Grosso, Pará e parte do estado do Maranhão (MIGUEL, 2007).

Na Amazônia existe uma grande variação de ecossistemas, sendo um dos principais a floresta Ombrófila densa e aberta, a floresta estacional decidual e semidecidual, savanas entre outras. A causa dessa diversidade florestal está expressamente associada às chuvas, gerando três tipos de agrupamentos básicos diferentes: igapós, matas de várzea e as matas de terra firme. As florestas exercem grande influência no clima devido a cobertura florestal, estabelecendo uma relação contínua entre fluxos de vapor e precipitação. A nível regional pode-se estabelecer um “clima amazônico” pois existe um conjunto de características que o diferencia dos demais do país e do continente, sendo eles: altas taxas anuais de umidade relativa, precipitação pluviométrica e temperaturas médias. Deve-se levar em consideração que muitos fatores são capazes de afetar esse equilíbrio dinâmico, como os desmatamentos e as atividades econômicas (MIGUEL, 2007).

Diante desses dados, considera-se que a maior reserva de plantas medicinais esteja na Amazônia, apesar dos poucos estudos em relação à quantidade de espécies presentes nessa floresta alguns estudos etnobotânicos apontam mais de 300 espécies já catalogadas (NODORI; GUERRA, 2004 apud BARBOSA, 2012; SOUZA, 2016). Dentre essas diversas espécies de plantas medicinais, existe uma planta com substâncias químicas e biológicas ativas, conhecida como copaíba, ela é vastamente usada pela população, devido às suas diversas aplicações. As copaíbas podem ser encontradas nas outras regiões do Brasil além da Floresta amazônica (CORREIA, 2017; BARBOSA, 2012; SILVA, 2017).

3.2 Copaíba

A sustentabilidade de componentes da biodiversidade Amazônica e a gestão adequada de seus recursos é algo que vem se tornando crescente no Brasil, além de constituir um dos maiores desafios na atualidade, uma vez que, é enorme a variedade de espécies nela encontrada (COSTA *et al.*, 2016).

A exploração do óleo-resina de copaíba é um exemplo de recurso abundante na região amazônica e que pode ser manejado dentro do conceito de sustentabilidade, representando uma alternativa de diversificação dos produtos não madeireiros na região amazônica (RIGAMONTE, 2004).

Copaibeiras são árvores típicas da região tropical da América Latina e também da África Ocidental, sendo que, na América Latina são encontradas espécies na região que se estende do México ao norte da Argentina (VEIGA JUNIOR; PINTO 2002).

O óleo de copaíba, também chamado de óleo resina, tem uma grande representação social e econômica no Brasil, especialmente na região Amazônica onde é amplamente utilizado. O óleo resina é um exsudato constituído por seiva formada por ácidos resinosos e compostos voláteis (VEIGA JUNIOR, 2007). Historicamente, o uso deste óleo já era bastante difundido entre os índios quando os primeiros exploradores portugueses chegaram ao Brasil onde o óleo era já utilizado como cicatrizante e anti-inflamatório (RAMOS, 2006). A utilização do óleo resina se perpetua até os dias atuais, sendo seu uso tão vasto que a copaíba se destaca como uma das plantas medicinais mais empregada e conhecida pela população, principalmente a amazônica.

É imensa a aplicação do óleo de copaíba salientando as indústrias de perfumes e cosméticos, onde são utilizados em diversas formas como por exemplo: loções capilares, sabonetes, perfumes entre outros, sendo utilizado também na indústria de vernizes e tintas (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Também tem sido muito extensivo seu uso na medicina tradicional, apresentando atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante, propriedades anticancerígena, antisséptica urinária e de repelência contra insetos (MIRANDA, 2016).

3.2.1 Descrição botânica e composição química

As árvores ou arbustos de copaíba fazem parte da família *Leguminosae Juss*, subfamília *Caesalpinoideae Kunth* e ao gênero *Copaífera*, e compreendem 72 espécies espalhadas pelas américas e oeste do continente africano. Destas, 24 são recorrentes no Brasil: *C. brasiliensis* Dwyer, *C. cearensis* Huber ex Ducke, *C. confertiflora* Benth, *C. coriacea* Mart, *C. duckei*

Dwyer, *C. elliptica* Mart, *C. glycyarpa* Ducke, *C. guianensis* Desf, *C. langsdorffii* Desf, *C. lucens* Dwyer, *C. lutxelburgii* Harms, *C. malmei* Harms, *C. marginata* Benth, *C. marjorina* Dwyer, *C. martii* Hayne, *C. multijuga* Hayne, *C. oblongifolia* Mart, *C. officinalis* (Jacq.) L, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, *C. piresii* Ducke, *C. publifora* Benth, *C. reticulata* Ducke *C. rondonii* Hoehne e *C. trapezifolia* Hayne (MARTINS-DA-SILVA *et.al.*, 2008; YAMAGUCHI; GARCIA, 2012; VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2002; BARBOSA, 2012; SILVA, 2017).

Veiga Júnior e Pinto (2002, p. 274) descreve que:

As copaibeiras são árvores de crescimento lento, alcançam de 25 a 40 metros de altura, podendo viver até 400 anos. O tronco é áspero, de coloração escura, medindo de 0,4 a 4 metros de diâmetro. As folhas são alternadas, pecioladas e penuladas. Os frutos contêm uma semente ovóide envolvida por um arilo abundante e colorido. As flores são pequenas, apétalas, hermafroditas e arrançadas em panículos axilares. A floração e frutificação das copaíbas ocorrem a partir dos 5 anos de idade, em plantios. A floração ocorre entre outubro e julho e a frutificação entre junho e outubro, com variações dentro destes intervalos, dependendo da região e clima, com ausência de florescimento anual, em algumas regiões.

Uma das características mais marcantes das copaíbas que ocorrem no Brasil é a produção da óleo-resina, que é o resultado da deterioração das paredes celulares do tronco, também chamada de excreção e/ou desintoxicação do organismo vegetal, o qual apresenta função de defesa contra animais, fungos e bactérias. A quantidade de óleo-resina produzida por árvore é variável, entretanto essa variabilidade não possui uma causa determinada, diversos fatores são apontados como: a sazonalidade, o ambiente de crescimento e a característica genética. Pode-se observar a ocorrência da copaíba em diversos ambientes como nas florestas de terras firmes, campos, campinaranas, dunas, matas de transição e em áreas úmidas, as preferidas para muitas espécies: margens de rios, igarapés, lagos, várzeas e igapós (BARBOSA, 2012; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

Destaca-se ainda a dificuldade para fazer a caracterização botânica e a diferenciação morfológica entre as espécies, primeiro por ser baseada nas características dos frutos e das flores (figura 1), como a “pubescência das sépalas, comprimento dos anteros e a condição glabrosa ou não do pistilo” (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2002), e segundo “pela dificuldade prática em se obter os órgãos florais das espécies, dado o curto período em que ocorrem e à altura das árvores” (BARBOSA, 2012).

Figura 1 - Inflorescências de copaibeiras. *Copaifera reticulata* (A) e da *Copaifera martii* (B)



Fonte: LAMEIRA *et.al.*, 2022.

A composição química dos óleos resinas das espécies de copaíba vem sendo estudadas desde o século XIX, a qual apresenta fração volátil rica em sesquiterpenos e fração constituída por compostos fixos predominantemente diterpênicos, podendo variar principalmente levando em conta os fatores externos como ataques provocados por insetos e fungos (RAMOS, 2006; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

Silva (2017) evidencia que os sesquiterpenos são os responsáveis pelo odor marcante dos óleos resinas de copaíba, entretanto mesmo sendo constituído em sua maioria por uma classe de componentes químicos, ainda assim a variação é muito grande. Essas variações podem ocorrer tanto entre as espécies ou em uma única espécie, tanto quantitativamente quanto qualitativamente (BARBOSA, 2012; MARTINS-DA-SILVA *et.al.*, 2008).

A literatura relata aproximadamente 110 sesquiterpenos e 42 diterpenos já identificados a partir do óleo-resina e do seu óleo essencial. Dentre os principais sesquiterpenos destacam-se cariofileno e β -cariofileno, α e β -humuleno, β -bisaboleno, α e β -cubebeno, γ e α -muuroleno, α e β -copaeno, δ e β -elemeno, α e β -selineno, óxido de cariofileno, cipereno e δ e γ -cadineno. Já com relação aos diterpenos, o ácido copálico, ácido hardwíckiico, ácido caurenóico e ácido colavênico são os mais representativos, além da presença de alguns monoterpenos (MIRANDA, 2016; BARBOSA, 2012; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002; SILVA, 2017).

3.3 Hidrodestilação

Há diversas técnicas de extrair as frações voláteis das plantas, como as partes aéreas (galhos finos e folhas), flores, frutos, sementes, cascas, troco ou resinas, alguns métodos podem ser aplicados, como a maceração, hidrodestilação, extração por solvente, micro-ondas dentre outras (SANTOS *et.al.*, 2004).

Dentre esses métodos o mais comum é o de hidrodestilação, o qual Silveira *et.al.*, (2012) destaca que a hidrodestilação pode englobar algumas técnicas que usam a água, seja ela apenas o vapor d'água ou o vapor e a água. Nesta última técnica o material vegetal permanece em contato com a água em ebulição e o vapor d'água provoca a abertura das paredes celulares causando a evaporação do óleo que está entre as células do material vegetal, e o vapor, agora constituído da mistura de óleo e água, passam por um condensador onde ocorre seu resfriamento. Devido constituintes não serem miscíveis, existe a formação de duas fases líquidas que após a condensação, podem ser separadas. Com base nessas propriedades físicas, em especial a densidade do óleo essencial a ser extraído, existem tipos de sistemas extratores indicados, sendo o sistema Clevenger apresentado na figura 2 o mais difundido para escala laboratorial (SANTOS *et.al.*, 2004; SILVEIRA *et.al.*, 2012).

O sistema de extração utilizando aparelho do tipo Clevenger é constituído por: o aparelho extrator, a manta aquecedora, balão de fundo redondo, condensador e refrigerador com circulação de água.

Figura 2 - Aparelho extrator Clevenger.



Fonte: SILVEIRA *et.al.*, 2012.

3.4 O capimannoni (*Eragrostis plana* Nees)

A invasão de uma área natural por espécies animais e vegetais é um dos maiores problemas ambientais atuais, esse problema decorra da introdução, espontânea ou intencional, de animais e plantas exóticas (FERNANDES; BARBOSA, 2013). Para Ziller (2000), espécies invasoras são aquelas que, uma vez introduzidas a partir de outros ambientes, se adaptam e passam a reproduzir-se ocupando o espaço de espécies nativas e produzindo alterações nos processos ecológicos naturais, tendendo a tornarem-se dominantes após um período de tempo mais ou menos longo requerido para sua adaptação.

A planta de capimannoni apresentada na figura 3, alcança de 0,5 a 1 m de altura, forma densas touceiras devido ao intenso perfilhamento e possui alto teor de fibra, o que resulta em difícil pastejo. A similaridade botânica do capimannoni com as espécies forrageiras nativas ou cultivadas dificulta o seu controle em pastagens naturais. Soma-se a isso o fato de a produção de sementes dessa espécie ser muito alta, podendo um único indivíduo gerar mais de 300.000 sementes (LORENZI, 2000). A alta dormência das sementes também favorece sua manutenção no banco de sementes do solo, proporcionando reinfestações contínuas. Outro agravante é o fato de o capimannoni apresentar efeitos alelopáticos capazes de influenciar a germinação ou limitar o crescimento das forrageiras nativas, reduzindo a capacidade de regeneração da vegetação nativa do bioma Pampa, o que reflete diretamente na redução da biodiversidade deste importante ecossistema (LORENZI, 2000).

Figura 3: Capimannoni estabelecido (A) e em desenvolvimento (B) em forma de touceiras, em solos com reduzida cobertura vegetal nativa (C) e suas sementes (D).



Fonte: MALDANE, *et.al.*, 2021

Relativo sucesso no controle do alastramento da espécie tem sido obtido através do uso de herbicidas químicos. Contudo, o uso indiscriminado de produtos químicos tem elevado a resistência de insetos-praga, fungos fitopatogênicos e plantas daninhas, bem como a contaminação do meio ambiente. Considerando os problemas do uso indiscriminado dos químicos, os produtos naturais representam uma alternativa para o controle de doenças e uma possibilidade de serem usados com bioherbicidas (BATISH *et al.*, 2007).

Compostos de origem natural oriundos de extratos ou do metabolismo secundário de plantas vêm sendo alvos de pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos ambientalmente seguros, que apresentem eficiência no controle de plantas indesejáveis e reduzido custo econômico.

Diversos constituintes químicos isolados de espécies vegetais têm demonstrado efeito como bioherbicidas para várias espécies de plantas daninhas, como *Achyranthes aspera*, *Cassia occidentalis*, *Parthenium hysterophorus*, *Echinochloa crusgalli* e *Ageratum conyzoides* (ENS *et al.*, 2009). Já para a *Eragrostis plana* Nees alguns estudos têm reportado potencialidades alelopáticas de algumas plantas medicinais, como são os casos das espécies de Arruda (*Ruta graveolens* L.), aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L), capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) e citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowit) (MALDANE, *et.al.*, 2021; PAWLOWSKI, *et.al.*, 2021).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

4.1.1 Vidrarias e materiais de uso geral

- Balão de fundo redondo de 500 mL
- Bastão de vidro
- Extrator de vidro tipo clevenger
- Condensador
- Proveta de 500 mL
- Pipeta
- Tubo tipo eppendorf
- Tesoura
- Régua
- Papel filme
- Etiquetas
- Papel substrato mata borrão
- Caixa gerbox de 250 mL

4.1.2 Solventes

- Água destilada
- Álcool etílico

4.1.3 Equipamentos

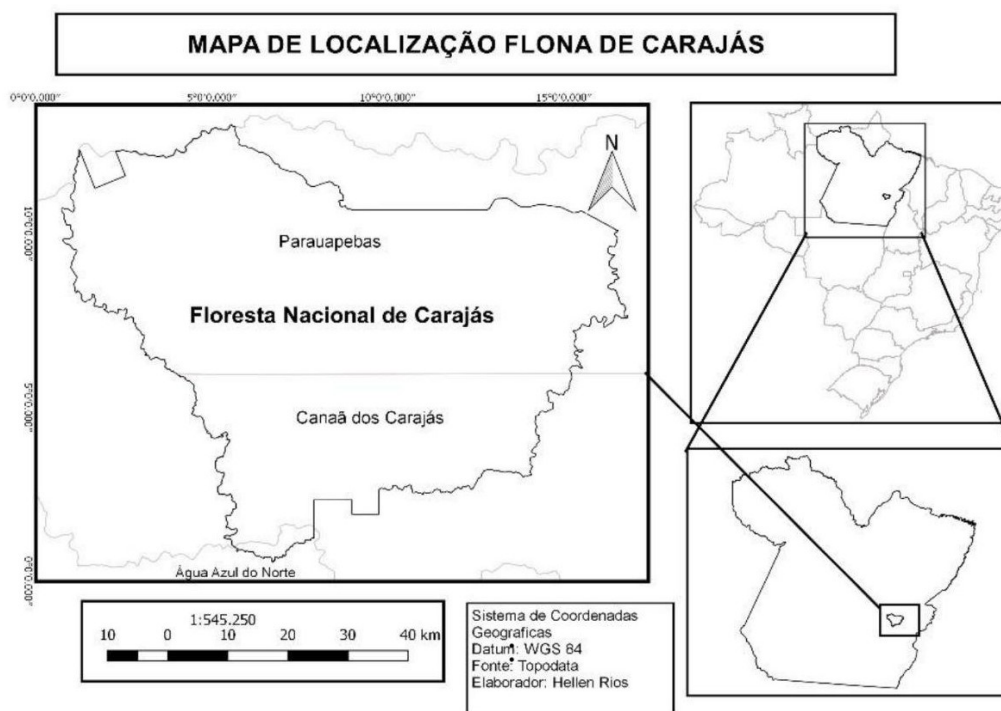
- Balança analítica
- Manta aquecedora
- Bomba de refrigeração
- Cromatógrafo gasoso acoplado a detector de Massas
- Pipeta automática
- Geladeira

4.2 Procedimento experimental

4.2.1 Material botânico

As oito amostras de óleo-resina de copaíferas foram cedidas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). As óleo-resinas foram extraídas de diferentes árvores que se encontram na Floresta Nacional de Carajás que compreende a área do município de Parauapebas no Pará (figura 4). As extrações foram realizadas no mês de julho de 2018 e as amostras foram codificadas como A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 e A8, ambas armazenadas em recipientes de vidro vedados e acomodadas em geladeira ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) para preservação das amostras de óleo-resina.

Figura 4 - Área de preservação do ICMBio no município de Parauapebas-PA.



Fonte: RIOS e VIDAL, 2018.

Um lote composto por sementes de capimannoni, cedido pela Dra. Joseila Maldaner, foi utilizado para os ensaios, as quais foram coletadas em diferentes cidades com incidência de infestação por capimannoni na região Central do Estado do Rio Grande do Sul, áreas de abrangência do bioma Pampa. As sementes foram armazenadas em geladeira ($\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$), onde permaneceram até o momento da instalação dos ensaios.

4.2.2 Extração do óleo essencial de copaíba

Para a extração dos óleos essenciais, as amostras A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 e A8 foram separadamente submetidas a extração por hidrodestilação utilizando extrator tipo Clevenger modificado apresentado na figura 5. Foram transferidas 25 g da amostra de cada amostra do óleo-resina e 250 mL de água destilada para um balão de fundo redondo, o qual foi acoplado ao Clevenger e ao condensador com circulação de água refrigerada. A capacidade inicial da manta aquecedora foi de 70 % e reduzida para 60 % durante o período de 3 horas de refluxo. O óleo essencial obtido foi coletado em tubo do tipo eppendorf, previamente pesado, identificado e posteriormente armazenado em geladeira ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). O procedimento foi realizado para as 8 amostras de óleo-resina, resultando nas amostras dos óleos essenciais identificados como OE1, OE2, OE3, OE4, OE5, OE6, OE7 e OE8

Figura 5 - Extração do óleo essencial de copaíba por hidrodestilação.



Fonte: Própria autora

Os rendimentos dos óleos essenciais foram calculados por meio da equação 01.

$$\%OE = \frac{m_{OE}}{m} \times 100 \quad (\text{Eq. 01})$$

onde, %OE corresponde à porcentagem de teor de óleo essencial; m_{OE} é a massa de óleo essencial de copaíba recolhida (g) e m é a massa de óleo-resina em base seca (g).

4.2.3 Análise do óleo fixo e essencial por CG/EM

A análise dos óleo-resinas e dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas da Faculdade de Química/ICE, utilizando-se um Cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas (CG-EM) da figura 6. O equipamento utilizado foi um CG-EM da marca Shimadzu, operando no modo de impacto eletrônico (70 eV) e com coluna capilar RESTEK sílica fundida (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme da fase estacionária). O hélio foi utilizado como gás de arraste a uma pressão de 8.2371 psi e velocidade de 36.623 cm/s. A programação de temperatura para o forno foi: temperatura inicial de 60°C mantida por 10 minutos; aumentando 5°C/min até 150°C, sendo esta temperatura também mantida por 5 minutos em seguida aumentando 5°C/min até 280°C e mantida por 10 minutos. As temperaturas do injetor e da interface do detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente. Os óleos, resinas e essências foram solubilizados em hexano grau HPLC na concentração de 0,1mg/mL. O volume de injeção foi de 1,0 mL com razão de split 20:1. A faixa de massas foi de m/z 45-450.

Figura 6 - Cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas



Fonte: Própria autora

4.2.4 Ensaio bioherbicida

Para o ensaio foi usada a amostra de óleo essencial mais recente, OE8, devido a disponibilidade do número de sementes. A amostra foi homogeneizada em álcool etílico 99% (1:1 - v:v) antes da composição do tratamento. O experimento consistiu em sete tratamentos, sendo: controle (água destilada); controle álcool; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% (v/v) do óleo essencial diluído em álcool. O controle álcool foi estabelecido com a maior concentração de álcool utilizada na diluição, a fim de se descartar o efeito do álcool no tratamento.

As sementes de capimannoni foram dispostas sobre papel de germinação do tipo mataborrão em caixas gerbox (capacidade 250 mL, medida 11 x 11 x 3,5 cm). O papel de germinação foi umedecido com a solução respectiva de cada tratamento em um volume de 5 mL por repetição, sendo reaplicados 1 mL a cada três dias para evitar a desidratação. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Cada repetição consistiu em uma caixa do gerbox com 20 sementes de capimannoni. Os testes foram realizados em sala de crescimento climatizada, com temperatura controlada de 25 °C ± 2 e fotoperíodo de 12 horas. Foram feitas contagens diárias da germinação e o potencial germinativo foi avaliado pelas seguintes variáveis:

- Germinação acumulada – Adaptado de Brasil (2013), foi realizada a contagem ao final de 10 dias após a incubação, com o resultado expresso em porcentagem. Foi determinada como germinada a semente que emitiu a radícula com no mínimo 2 mm de comprimento;
- Sementes mortas – Realizada concomitantemente com a germinação acumulada, sendo que as sementes que não germinaram, foram classificadas como mortas. O resultado foi expresso em porcentagem.
- Índice de velocidade de germinação (IVG) – Determinado através de contagens diárias da germinação durante 10 dias. Os valores obtidos foram calculados pela equação 02:

$$IVG = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn} \quad (\text{eq. 2})$$

onde, IVG = é o índice de velocidade de germinação; G1, G2,... Gn = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem e N1, N2,... Nn = número de dias da semente à primeira, segunda e última contagem (MAGUIRE, 1962);

- Tempo médio de germinação (TMG) – Calculado pela equação 03:

$$TMG = \frac{G1N1+G2N2+G3N3+\dots+GiNi}{G1+G2+G3+\dots+Gi} \quad (\text{eq. 03})$$

Onde: TMG = é tempo médio de germinação, o G = é o número de plântulas germinadas observadas em cada dia de contagem e N = número de dias da semeadura a cada contagem (SANTANA; RANAL, 2004);

Ao final de dez dias, também foi realizada uma avaliação do desenvolvimento inicial das plântulas de capimannoni através de medições de altura das plântulas, contagem do número de perfilhos e avaliação visual do dano (atribuiu-se notas de 1 a 4, onde 1 = sem dano visível; 2 = dano inicial; 3 = dano moderado; 4 = dano severo). Além disso, a massa seca das plântulas foi aferida em balança analítica após massa constante.

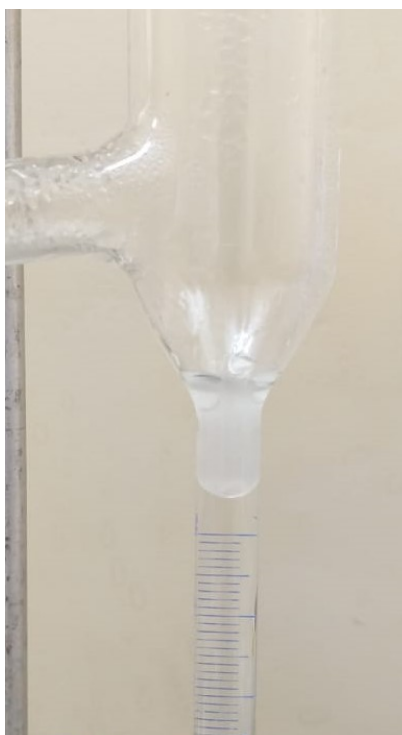
Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e à verificação das diferenças estatísticas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do software estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento da extração do óleo essencial de copaíba

Os óleos essenciais obtidos, apresentam coloração incolor/esbranquiçada e baixa densidade (figura 7), aspectos que estão de acordo com os relatados por Silva (2017), onde a fração fixa do óleo resina de copaíba é a responsável pela coloração.

Figura 7 - Óleo essencial obtido ao final da extração por hidrodestilação



Fonte: Própria autora.

Na tabela 1 estão descritos a porcentagem de rendimento da extração do óleo essencial de copaíba a partir do óleo resina. Farias (1999) relata que o rendimento médio de óleo essencial é de aproximadamente 1,2%, sendo assim, obteve-se um ótimo rendimento para estes. Trapp & Croteau (2001), relatam que o rendimento do óleo pode variar de acordo com os fatores ambientais, material vegetal amostrado, ou método de extração. Ainda de acordo com Farias (1999), a localização geográfica, época da coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento podem influenciar o rendimento e composição química de óleos essenciais.

Tabela 1 - Rendimento das extrações dos óleos essenciais de copaíba.

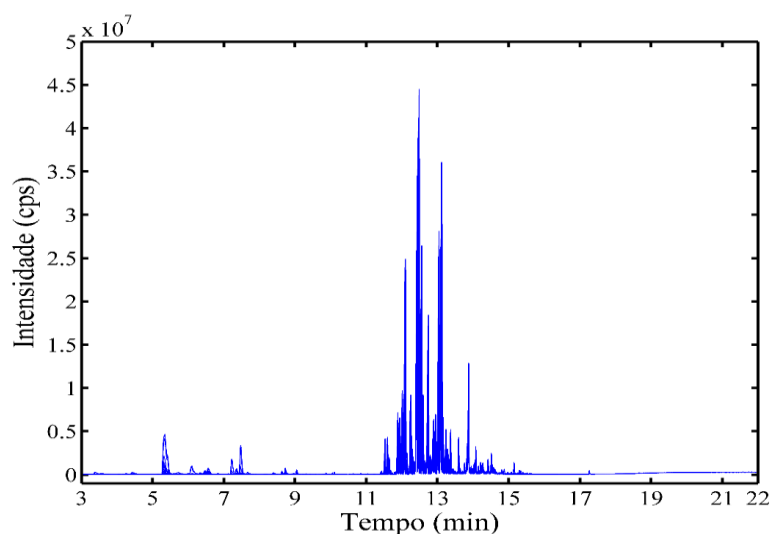
Amostra	Massa (g)	Rendimento (%)
OE1	1,9763	7,9052
OE2	1,0334	4,1336
OE3	0,7008	2,8032
OE4	1,5054	6,0216
OE5	1,1998	4,7992
OE6	0,3029	1,2116
OE7	1,0358	4,1432
OE8	04004	1,6016

Fonte: Própria autora.

5.2 Análise do óleo-resina de copaíba por CG/EM

Os cromatogramas dos óleos resinas 1 a 8, figura 8, mostram que todas as amostras analisadas apresentam perfis químicos semelhantes, onde pode-se observar que as substâncias se concentraram na região entre 5 a 16 minutos, sendo assim, optou-se por analisar somente essa região. Ao todo foram isolados 40 compostos, porém, apenas 26 deles foram identificados utilizando-se comparações dos espectros de massas obtidos com aqueles das bibliotecas NIST Chemistry WebBook, com similaridade > 96%, tabela 2.

Figura 8 - Sobreposição dos cromatogramas dos óleos resinas 1 a 8.



Fonte: Própria autora.

Tabela 2 - Tempo de retenção (min) dos componentes presentes nas amostras de óleos resinas de copaíba.

#	Componente	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
1	Ciclosativeno	-	-	11.888	11.887	11.887	11.886	-	-
2	α -Copaeno	-	11.953	11.954	-	-	-	11.952	-
3	7-epi-Sesquitujeno	-	-	12.015	12.015	-	12.014	-	-
4	β -Elemeno	12.083	12.051	12.083	12.083	12.082	12.081	12.081	12.079
5	Cipereno	-	12.243	12.243	12.243	12.243	12.243	-	1.2241
6	Cariofileno	12.413	12.413	12.415	12.413	12.416	12.413	12.411	12.410
7	<i>Cis</i> - α -Bergamoteno	12.470	12.470	12.470	12.470	12.469	12.469	12.468	12.467
8	Sesquisabineno	-	-	12.526 e 13.238	-	-	13.239	12.528	-
9	<i>Trans</i> - β -Bergamoteno	-	-	12.581 e 12.937	12.937	12.937	12.579 e 12.937	12.935	-
10	α -Humuleno	12.727	12.726	12.726	-	12.726	12.725	12.724	12.723
11	γ -Muuroleno	-	-	12.885	-	-	-	-	-
12	β -Bisaboleno	-	-	13.096	13.096	13.096	-	-	-
13	δ -Cadineno	-	-	13.277	-	-	-	-	-
14	(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno	13.373	13.373	13.373	13.371	13.372	13.371	13.371	-
15	<i>Trans</i> - β -Ocimeno	-	-	-	7.488	-	-	-	-
16	<i>Trans</i> - α -Bergamoteno	-	-	-	12.281	-	-	-	-

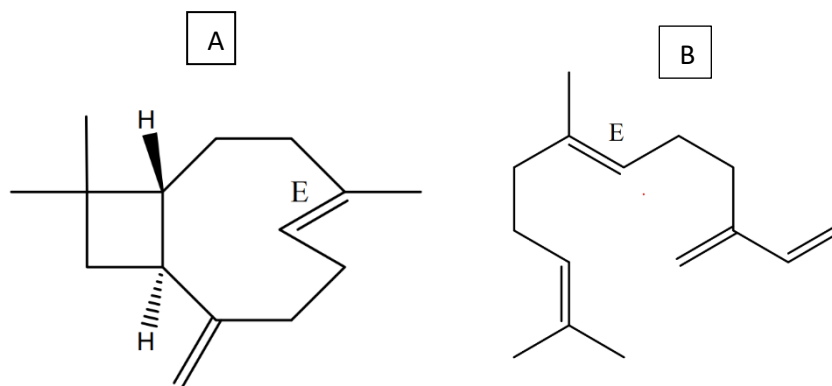
17	1,4,7,- Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	-	-	-	12.726	-	-	-	-
18	(2Z,4E)-3,7,11- Trimethyl- 2,4,10- dodecatriene	-	-	-	12.999	-	-	-	-
19	β - Sesquifelandreno	-	-	-	13.239	13240	-	13.240	-
20	α -Cubebeno	-	-	-	-	11.954	11.952	-	-
21	(E)- β - Farneseno	-	-	-	-	12.579	-	12.579	-
22	α -Guaieno	12.531	12.531	-	-	-	-	-	12.529
23	Guaia-6,9-dieno	12.585	12.583	-	-	-	-	-	12.581
24	β -Selineno	13.023	13.023	-	-	-	13.023	13.022	13.019
25	Isocariofileno	-	-	-	-	-	-	-	13.093
26	α -Bulneseno	13.154	13.153	-	-	-	-	-	13.150

***Sesquiterpenos *monoterpenos**

Fonte: Própria autora.

As amostras apresentaram como compostos majoritários o cariofileno e o α -farneseno (figura 9) que está de acordo com a literatura, Barbosa (2012) aponta ainda que essas substâncias estão atreladas a atividades biológicas: antiinflamatória, inseticida e antimicrobiana, sendo as majoritárias na maioria dos óleos resinas estudadas. Os componentes comuns a todas as amostras são o cariofileno, cis- α -Bergamoteno e β -Elemeno. Os quais podem apresentar caráter biomarcador para óleos resinas das árvores do gênero *Copaifera* que ocorrem na região amazônica.

Figura 9- Cariofileno (A) e α -farneseno (B)



Fonte: ADAMS, 2017

5.3 Análise do óleo essencial de copaíba por CG/EM

As análises dos óleos essenciais de copaíba levaram a identificação de 93 substâncias, tabela 3, utilizando-se comparações dos espectros de massas obtidos com aqueles das bibliotecas NIST Chemistry WebBook, com similaridade > 96%. Sendo a mirceno e o α -pineno os compostos comuns a todas as amostras.

Tabela 3: Tempo de retenção (min) dos compostos das amostras de óleos essenciais.

#	Compostos	OE1	OE2	OE3	OE4	OE5	OE6	OE7	OE8
1	Phenol, 3, 5-dimethyl-	-	-	9.885	-	-	-	-	-
2	3,3-diethoxy-1-propyne	-	-	11.240	-	-	-	-	11.250
3	hept-5-en-2-one <6-methyl->	-	-	11.920	11.920	11.935	11.925	-	-
4	Mirceno	12.025	12.035	12.020	12.035	12.040	12.040	12.040	12.035
5	Dimetol	-	-	12.080	-	-	-	-	-
6	δ -3-Careno	-	-	12.570 e 14.230	14.235	-	14.240	14.235	12.585 e 14.245

7	(2E,4E)-3,7-Dimethyl-2,4-octadiene	-	-	13.300	-	-	-	-	13.315
8	D-Limoneno	13.420	13.430	13.420	13.430	-	13.440	-	13.440
9	α -Pineno	9.785 e 13.835	9.785	13.850	9.790 e 13.850	9.790 e 13.860	9.795 e 13.855	9.805 e 13.885	9.785 e 13.865
10	γ -Terpineno	-	-	14.535	-	-	-	-	-
11	heptyl methyl ketone	-	-	15.925	15.930	-	-	-	-
12	Heptadi-3,5-en-2-one <6-methyl->	16.410	16.425	16.415	16.415	16.420	16.420	16.425	-
13	1H-Pyrazole,3-methyl-	-	-	16.735	-	-	16.730	-	-
14	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-,(E,Z)-	-	-	17.290	-	-	-	-	17.300
15	4-Acetyl-1-methylcyclohexene	-	17.380	17.370	-	17.370	17.370	17.370	-
16	Citronelal	-	-	18.195	-	-	-	-	-
17	Ethanone,1-(4-methylphenyl)-	-	-	19.350	19.355	-	-	-	-
18	Benzene,1-methoxy-4-(1-methylethyl)-	-	-	19.705	-	-	-	-	-
19	2-undecanona	-	-	23.195	-	-	-	-	-
20	Ciclosativeno	25.645	26.710	25.660	-	25.645	25.670	-	-
21	(E)-Cariofileno	-	27.680	28.010	27.635	-	-	-	-
22	Sesquisabineno	-	-	28.750 e 31.120	-	-	-	-	-
23	1,4,7,-Cycloundecatriene,1,5,9,9-tetramethyl-,Z,Z,Z-	-	-	29.180	29.545	-	-	-	-

24	β -Selineno	30.360	29.975	29.890	30.270	30.180 e 30.235	-	-	-
25	(Z)- α -Bisaboleno	-	31.550	31.505	31.730	32.010 e 32.055	31.925 e 32.015	31.615	-
26	Óxido Cariofileno	32.730	32.735	32.665	32.850	33.030	33.055	31.970 e 32.860	-
27	α -cadinol	-	34.480	34.560	34.570	-	-	-	34.780
28	α -Bisabolol	35.210	35.210 e 35.265	35.225 e 35.280	35.240 e 35.295	35.290	-	35.215	-
29	Juniper campor (cânfora de zimbro)	-	-	35.645	35.665	35.705	-	-	-
30	Óxido Manool	43.590	43.565	43.575	43.575	43.580	-	43.575	-
31	16-Caureno	44.225	44.170	44.185	44.200	44.215	44.190	44.180	-
32	β -Pinenol	11.395	-	-	11.400	-	11.405	11.405	-
33	(+)-4-carene	-	-	-	15.735	-	15.745	15.745	-
34	o-guaiacol	-	-	-	15.810	-	-	-	-
35	Isocariofileno	-	-	-	27.470	-	-	-	-
36	bicyclo(5.2.0)nonan e, 2-methylene- 4,8,8-trimethyl-4- vinyl-	-	-	-	27.980	28.015	-	-	-
37	Cariofileno	-	-	-	28.950	27.565 e 28.590	-	28.240	-
38	cis- α -Bergamoteno	-	-	-	29.325	-	29.080	-	-
39	trans- β - Bergamoteno	-	29.860	-	30.155	-	-	-	-
40	α -Humuleno	29.180	29.365	-	29.810	29.445 e 29.595	29.540	29.725	-

41	1H-cycloprop(e)azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1 α ,4 α ,4a β ,7b α))-	-	-	-	29.995	-	-	-	-
42	naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-	-	-	-	30.405	-	-	-	-
43	β -Bisaboleno	30.885	30.990	-	30.730 e 31.245	31.495, 31.600 e 31.680	31.140 e 31.635	31.205	-
44	β -Sesquifelandreno	-	28.935	-	31.405	-	31.745	-	-
45	(Z)- γ -Bisaboleno	31.435	-	-	31.470	-	-	-	-
46	Álcool Cariofileno	-	32.260	-	32.415	32.615	-	-	-
47	Guaiol	-	-	-	33.050	-	-	-	-
48	3,7,11-Trimethyl-dodeca-2,6,10-trienoic acid	-	-	-	38.640	-	-	-	-
49	Pimaradieno	-	-	-	41.895	-	-	-	41.920
50	Styrene	-	-	-	-	8.250	8.240	8.255	-
51	Limoneno	-	-	-	-	13.440	-	13.440	-
52	phenol, 2- methoxy	-	-	-	-	15.820	15.820	-	-
53	δ -Elemeno	24.715	24.735	-	-	24.665	24.660	-	24.730
54	Humuleno	-	-	-	-	29.735	-	-	-
55	α -Selineno	-	-	-	-	31.160	-	-	-
56	α -Calacoreno	-	-	-	-	32.120 e 32.420	-	-	31.620
57	2-Nonanone	-	-	-	-	-	15.925	-	-

	eta)]								
73	(E)-9- <i>epi</i> - Cariofileno	-	-	-	-	-	-	-	29.460
74	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7- hexahydro-1,6- dimethyl-4-(1- methylethyl)-	-	31.335	-	-	-	-	-	31.380
75	Globulol	-	-	-	-	-	-	-	32.925
76	Cadaleno	-	35.040	-	-	-	-	-	35.165
77	Methyl farnesoate <(2E,6E)->	-	-	-	-	-	-	-	37.850
78	Geranyl linalool <(E,E)->	-	-	-	-	-	-	-	43.895
79	Manool	-	-	-	-	-	-	-	44.680
80	trans- Geranylgeranyol	-	-	-	-	-	-	-	47.540
81	4-Acetil-1- metilciclohexeno	17.365	-	-	-	-	-	-	-
82	Copaeno	26.035	-	-	-	-	-	-	-
83	β -Elemeno	26.595	-	-	-	-	-	-	-
84	Guaia-6,9 dieno	28.875	-	-	-	-	-	-	-
85	Rotundeno	29.230	-	-	-	-	-	-	-
86	Naphthalene <1,2,2,4,6,7,8,8a- octahydro-, 1,8a- dimethyl-7-(1- methylethenyl)-, (1R, 7S,8aS)->	29.390	-	-	-	-	-	-	-
87	Pogostol	34.490	-	-	-	-	-	-	-
88	Labd-7,13-dien-15- ol	49.550	-	-	-	-	-	-	-

89	(E)- β -Ocimeno	-	14.235	-	-	-	-	-	-
90	Carvacrol	-	23.515	-	-	-	-	-	-
91	γ -Muuroleno	-	29.680	-	-	-	-	-	-
92	(E)- γ -Bisaboleno	-	31.265	-	-	-	-	-	-
93	β -Calacoreno	-	32.055	-	-	-	-	-	-

Fonte: Própria autora.

5.4 Avaliação do potencial bioherbicida do óleo essencial com capim annoni

Atividades bioherbicidas foram reportadas anteriormente para algumas espécies de *Copaifera*. Santana et al. (2006) observaram que *Copaifera langsdorfii* Desf interferiu diretamente na germinabilidade de sementes de alface, os autores observaram que o extrato obtido de folhas e casca de serapilheira da *C. langsdorfii* inibiu a germinação. Além disso, outros estudos apontam que a diversidade de espécies vegetais sob suas copas é baixa, da mesma forma que sua frequência da regeneração natural (CETNARSKI FILHO; NOGUEIRA, 2005; Silva et al. 2012). Souza Filho et al. (2010) estudaram o potencial alelopático de três espécies de *Copaifera*, *C. duckei*, *C. martii* e *C. reticulata*, sobre a germinação e o crescimento de raiz de plantas daninhas e observaram que o extrato etanólico de folhas e galhos de *C. martii* e *C. reticulata* foram eficientes em inibir a germinação, já *C. duckei*, embora não tenha inibido significativamente a germinação de sementes, afetou de forma expressiva o desenvolvimento da raiz.

O óleo essencial de copaíba inibiu de forma significativa a germinação e o crescimento inicial do capim annoni, especialmente em concentrações superiores a 1,5% (Tabela 4 e 5). A inibição da germinação acumulada (GA) do capim annoni foi de cerca de 27% em exposição ao OE de copaíba, seguido da mortalidade, que foi crescente com o aumento da concentração. Quanto a velocidade de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) foi significativamente reduzido a partir da concentração acima de 1,5%, já o tempo médio de germinação (TMG) foi maior para concentrações acima de 1,0% do óleo essencial de copaíba.

Tabela 4 - Germinação do *Eragrostis plana* em exposição a diferentes concentrações de óleo essencial de copaíba, após dez dias de instalação.

	Controle	C. Álcool	0,1%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	C.V
GA	83,33 a	86,67 a	80,0 ab	70,00 ab	68,33 b	58,33 b	61,67 ab	13,93
Mortas	16,67 b	13,33 b	20,00 ab	30,00 ab	31,67 ab	41,67 a	38,33 ab	26,95
IVG	5,67 a	4,84 a	4,92 a	4,29 ab	3,73 ab	2,31 b	2,75 b	17,83
TMG	3,10 c	3,79 bc	3,35 bc	3,37 bc	4,09 b	5,62 a	4,96 a	7,62

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Fonte: Própria autora.

Os efeitos no desenvolvimento inicial podem ser observados pela inibição do crescimento e desenvolvimento radicular, por ser sensível à ação de aleloquímicos, isto porque o alongamento depende de divisões celulares, que quando inibidas, comprometem seu desenvolvimento. Por exemplo, compostos fenólicos provocam alterações nas membranas celulares, as quais passam a não ter permeabilidade seletiva específica, causando distúrbios no fluxo de íons e condutividade hidráulica nas raízes (ASLAM *et al.*, 2017). Mesmo não avaliando o sistema radicular, por se tratar de um ensaio *in vitro*, o desenvolvimento radicular é insuficiente para tais avaliações, mas os efeitos no crescimento inicial puderam ser percebidas.

Tabela 5 - Efeitos no crescimento inicial do *Eragrostis plana* em exposição a diferentes concentrações de óleo essencial de copaíba, após dez dias de instalação.

	Controle	C. Álcool	0,1%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	C.V
Altura	1,29 a	0,92 bc	1,34 a	1,05 b	0,70 cd	0,57 d	0,54 d	9,04
Dano	1,03 c	2,47 a	1,39 bc	1,39 bc	1,88 ab	2,39 a	2,39 a	12,81
Perfilhamento	1,92 a	1,67 a	1,25 a	1,22 a	1,10 a	1,11 a	1,22 a	28,76
Biomassa	0,0029 a	0,0022 bc	0,0025 ab	0,0022 bc	0,0017 c	0,0017 c	0,0016 c	11,63

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação

Fonte: Própria autora

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das 8 amostras de óleos resinas de copaíbas, coletada na área de preservação do ICMBio, no município de Parauapebas-PA foi extraído suas frações voláteis por hidrodestilação, o qual resultou em amostras de óleos essenciais com índices de rendimentos satisfatórios, para OE1 7,9%, OE2 4,1%, OE3 2,8%, OE4 6,2%, OE5 4,8%, OE6 1,2%, OE7 4,1% e OE8 de 1,6%.

A caracterização química dos óleos resinas e de seus óleos essenciais foi realizada em cromatografia gasosa acoplada a detector de massas, apresentando resultados similares aos presentes na literatura. Predominantemente de uma grande variedade de sesquiterpenos e alguns monoterpenos, sendo os compostos majoritários o coriofileno e o α -farmaseno, que possuem atividades biológicas registradas.

A avaliação biológica da amostra de óleo essencial OE8, frente ao capim annoni foi executada avaliando a germinação e o crescimento das sementes, que se mostraram reduzidos em concentrações mais elevadas do óleo essencial durante o ensaio, requisitos necessários para indicação de atividade bioherbicida.

Ainda não existe um padrão para a caracterização de uma espécie de copaíba mediante somente sua composição química, que facilite aplicações específicas. Entretanto, o estudo se mostrou importante e satisfatório para colaborar com novos produtos ambientalmente seguros e futuras análises da função bioherbicida das espécies que ocorrem na Amazônia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**. Allured publishing, Carol stream. ed. 4.1, 2017, 809 p.
- ASLAM, F. et al. **Allelopathy in agro-ecosystems; a critical review of wheat allelopathy-concepts and implications**. Chemoecology, v. 27: p. 1-24, 2017.
- BARBOSA, P. C. S. **Padronização de óleos de copaífera multijuga hayne por meio de técnicas cromatográficas**. Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM, 2012.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**. Química Nova, v.32, n.3, p.679-688, 2009.
- BATISH, D. R.; LAVANYA, K.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. **Phenolic allelochemicals released by *Chenopodium murale* affect the growth, nodulation and macromolecule content in chickpea and pea**. Plant Growth Regulation, v. 51, n. 2, p. 119-128, 2007.
- BERGAMIM, M.; ROSA, F. **Método de Controle do capimannoni aumento produtividade da Pecuária**. Embrapa Pecuária Sul. 2020.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: SNDA/CGAL, 2013. 97 p.
- CETNARSKI-FILHO, R.; NOGUEIRA, A. C. **Influência da temperatura na germinação de diásporos de *Ocotea odorifera* (Vellozo) Rohwer (Canela-sassafrás)**. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 15, n. 2, p. 191- 198, 2005.
- CORREIA, R. M. **Análise das propriedades físico-químicas do óleo-resina de copaíba (*copaífera paupera*) Herzag Dwyir associado ao agregado trióxido mineral**. Dissertação (mestrado em ciências e inovação tecnológica). Universidade Federal do Acre. Rio Branco-AC, 2017.
- COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P; SILVA, Pollyanna Ibrahim. **Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries**. J. Funct. Foods, v. 5, p. 539, 2016.
- ENS, E. J.; BREMNER, J.B.; FRENCH, K.; KORTH, J. **Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *Rotundata*), and their inhibition of native seedling growth**. Biology Investigación, 11, 275-287, 2009.
- FARIAS, M. R. Avaliação da Qualidade de matéria primas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, C. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFSC e UFRGS, 1999.
- FERNANDES, G. W.; BARBOSA, N. P. U. **Bombas relógio que ameaçam a natureza - Com um dos patrimônios ambientais mais ricos do país, Minas Gerais se ressentem da negligência e irresponsabilidade pela introdução de espécies invasoras**. Scientific American Brasil, p. 60-61, agos. 2013.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia, v. 35, n. 6, p. 1.039-1.042, nov/dez. 2011.

FIORAVANTI, Carlos. **A maior diversidade de plantas do mundo**. Revista Pesquisa FAPESP, São Paulo, ed. 241, mar. 2016. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/2016/03/21/a-maior-diversidade-de-plantas-do-mundo/>. Acesso em: 22 de nov. 2023.

LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA, E. C. P.; FERREIRA, M. C.; CORDEIRO, I. M. C. C. *Copaifera* spp. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte**. MMA. Brasília-DF, p.1028-1040, 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1144674/1/Plantas-para-o-Futuro-Norte-1029-1041.pdf>. Acesso em: 28 de out. 2023.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 324, 2000.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. Crop Science, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MALDANER, J.; STEFFEN, G. P. K.; STEFFEN, R. B.; MORAIS, R. M.; SALDANHA, C. W.; MISSI, E. L.; MORO, T. S.; SILVA, R. F. **Óleos essenciais: potencial bioherbicida para o controle do capimannoni**. Boletim Técnico: pesquisa e desenvolvimento 5. SEAPDR/DDPA. Porto Alegre-RS, 2021. 33p.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREIRA, J. F.; LIMA, H. C. **O gênero *Copaifera* (leguminosae – caesalpinioideae) na amazônia brasileira**. Revista Rodriguésia, v. 59, n. 3, p. 455-476, 2008.

MIGUEL, L. M. **Uso sustentável da biodiversidade na Amazônia brasileira: experiências atuais e perspectivas das bioindústrias de cosméticos e fitoterápicos**. Dissertação (mestrado em geografia humana). Universidade Federal de São Paulo-SP, 2007, 160 p.

MIRANDA, D. H. S.; MUNIZ, J. W. C.; SILVA, D. P. **Estudo comparativo da ação anti-inflamatória do óleo-resina da *Copaifera reticulata* em modelos farmacológicos experimentais em camundongos**. Fisioterapia Brasil, v. 17 n. 4, p. 305-312, 2016.

MORAIS, M. M.; ALVES, W. S.; PEREIRA, E. C.; ARAÚJO, A. Z.; SILVA, M. A. S.; VIEIRA, J. S. C.; **Resumo do VII CONNEPI**, Tocantins, Brasil, 2019

OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G. B. **Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA**. Revista Nacional de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 8, n. 3 p. 14-23, 2006. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/578061/4/SP7249.pdf>. Acesso em: 15 set. 2023

PAWLOWSKI, Â.; KUZHEY, C. A.; BASTOS, K. P.; BIRCK, T. P.; SILVA, E. R. **Potencial alelopático dos óleos essenciais de capim-limão, citronela e lavanda**. Agroecologia: métodos e técnicas para uma agricultura sustentável. Revista Científica, v. 4, p. 141-155, 2021.

PUING, C. G.; REVILLA, P.; BARREAL, M. E.; REIGOSA, M. J.; PEDROL, N. **On the suitability of Eucalyptus globulus green manure for field weed control.** Science Direct, v. 121, p. 57-65, mar. 2019.

RAMOS, M. F. S. **Desenvolvimento de microcápsulas contendo a fração volátil de copaíba por spray-drying: estudo de estabilidade e avaliação farmacológica.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 132 p, 2006.

RIGAMONTE AZEVEDO, O. C.; WADT, P. G. S.; WADT, L. H. O. **Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina.** Rio Branco: EMBRAPA, MAPA, 28p, 2004.

RIOS, H. K. S.; VIDAL, M. R. **Mapeamento da vegetação da floresta nacional de carajás.** III Encontro De Pós-Graduação. PROPIT UNIFESSPA. 9 p, mai, 2018.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico.** Brasília: UnB, 2004. 247 p.

SANTANA, D. G. *et al.* **Germination measurements to evaluate allelopathic interactions.** Allelopathy Journal, v. 17, n. 1, p. 43-52, jan/abr, 2006.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; NETO, O. G. R. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório.** Comunicado Técnico, 99. EMBRAPA. Belém-PA. nov, 2004.

SOUZA, A. E. **Plantas medicinais e tecnologias sociais para o desenvolvimento local na Amazônia: A experiência do Estado do Amapá.** Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Naturais e Desenvolvimento). Universidade Federal do Pará. Macapá-AP, 2016.

SOUZA FILHO, A. P. S.; VASCONCELOS, M. A. M.; ZOGHBI, M. G. B.; CUNHA, R. L. **Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas.** Acta Amazônica, v. 39, n. 2, p. 389-396, 2009.

SILVA, J. J. M. **Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos de folhas de espécies de *copaiferas*.** Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto-SP, 2017.

SILVA, R. M. G.; SANTOS, H. M.; BORGES, F. M.; MELO, F. F. Q.; SILVA, L. P. **Potencial alelopático e levantamento do banco natural de sementes sob a copa de *Copaifera langsdorffii* Desf.** Biosci. J., Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 641-653, jul/ago. 2012.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S.; JUNIOR, E. F. C. **Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais.** Enciclopédia Biosfera, v.8, n.15; p. 2038-2052. Goiânia-GO, nov, 2012.

TRAPP, S. A.; CROTREAU, R. B. **Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications.** Genetic. v.158, p.811-32, 2001.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **O gênero *copaifera* L.** Química Nova, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

YAMAGUCHI, M. H.; GARCIA, R. F. **Óleo de copaíba e suas propriedades medicinais: revisão bibliográfica.** Revista Saúde e Pesquisa, v. 5, n. 1, p. 137-146, jan./abr. 2012.

ZILLER, S. R. **A Estepe Gramíneo-Lenhosa no segundo planalto do Paraná: Diagnóstico ambiental com enfoque á contaminação biológica.** Tese de doutoramento. Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PR. 268 p. 2000.