



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE - UERN
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS - FANAT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS - PPGCN
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS - MCN



JOYCE SOARES DE SOUZA

SÍNTESE DO ACETATO DE EUGENILA CATALISADO POR ZEÓLITAS E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANSIOLÍTICO USANDO O ZEBRAFISH (DANIO
RERIO) ADULTO

MOSSORÓ - RN

2023

JOYCE SOARES DE SOUZA

**SÍNTESE DO ACETATO DE EUGENILA CATALISADO POR ZEÓLITAS E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANSIOLÍTICO USANDO O ZEBRAFISH
(DANIO RERIO) ADULTO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais (PPGCN), da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, em cumprimento as exigências para a obtenção do título de mestre em Ciências Naturais.

Linha de pesquisa: Tecnologia Ambiental
Orientador: Prof.º Dr. Vinícius Patrício Santos Caldeira

Coorientador: Prof.º Dr. Leandro Bezerra de Lima

Mossoró - RN

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do(a) autor(a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu(a) respectivo(a) autor(a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Catálogo da Publicação na Fonte.
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

S676s Soares de Souza, Joyce
 SÍNTESE DO ACETATO DE EUGENILA CATALISADO
 POR ZEÓLITAS E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL
 ANSIOLÍTICO USANDO O ZEBRAFISH (DANIO RERIO)
 ADULTO. / Joyce Soares de Souza. - Mossoró-RN, 2023.
 76p.

 Orientador(a): Prof. Dr. Vinícius Patrício Santos
 Caldeira.

 Coorientador(a): Prof. Dr. Leandro Bezerra de Lima.
 Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-
 Graduação em Ciências Naturais). Universidade do
 Estado do Rio Grande do Norte.

 1. Acetato de eugenila. 2. Catálise heterogênea. 3.
 Química verde. 4. Zebrafish. I. Santos Caldeira, Vinícius
 Patrício. II. Universidade do Estado do Rio Grande do
 Norte. III. Título.

JOYCE SOARES DE SOUZA

SÍNTESE DO ACETATO DE EUGENILA CATALISADO POR ZEÓLITAS E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANSIOLÍTICO USANDO O ZEBRAFISH
(DANIO RERIO) ADULTO

Dissertação apresentada à Universidade
do Estado do Rio Grande do Norte -
UERN, em cumprimento as exigências
para a obtenção do título de mestre em
Ciências Naturais.

Aprovado em 30/08/2023.

Banca Examinadora

Prof.º Dr. Vinícius Patrício Santos Caldeira

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN

Prof.º Dr. Keurison Figueredo Magalhães

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN

Prof.º Dr. Hécio Silva dos Santos

Universidade Estadual do Vale do Acaraú – UEVA

Prof.º Dr. Wildson Max Barbosa da Silva

Universidade Estadual do Ceará – UECE

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me manter sempre de pé, firme diante de tudo e qualquer situação. dando-me forças e coragem para vencer os obstáculos do dia a dia.

Aos meus pais, **Joelma** e **Itaécio**, pela paciência, por nunca desistirem de mim e acreditarem na minha capacidade. Por dar apoio fundamental para que eu encarasse todos os obstáculos da vida e por sempre se desdobrarem para me fornecer as melhores condições.

Ao meu irmão **Gabriel**, minha avó **Ana** e ao meu pet **Dora** por sempre estarem comigo, e tornar os dias mais leve, a toda **minha família** e a minha melhor amiga **Rita de Cássia** e demais **amigas** pela força, convivência, confiança e palavras confortantes.

Ao meu orientador **Prof. Vinícius** e coorientador **Prof. Leandro**, agradeço imensamente pela orientação durante todo esse desafio, que agora está se cumprindo. Obrigada por toda paciência e todos os ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório de Catálise, Ambiente e Materiais (LACAM), em especial a **Miguel, Ana Claudia, Larissa, Beatriz, Ana Laura, Daniele e Alrivan** por todos os conhecimentos compartilhados e convívio. Sem vocês tudo teria sido muito mais difícil.

Aos colegas do Laboratório de Cromatografia, pela colaboração.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, pela oportunidade.

A Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao Grupo de Pesquisa em Química de Produtos Naturais e Sintéticos e Bioensaios com Zebrafish – QPNSZ da Universidade Estadual do Ceará (UECE), pelas parcerias.

A todos que de alguma forma, indireta ou direta, colaboraram para a realização deste trabalho.

“Sê forte e corajoso; não temas, nem te
espantes; porque o Senhor teu Deus é contigo,
por onde quer que andares.”
(BÍBLIA, Josué, 1, 9)

RESUMO

O acetato de eugenila (AE) é um derivado do eugenol e possui ações antifúngica, antimicrobiana, larvicida e outros. Uma das formas de obter esse composto é pela reação de esterificação, e para o desenvolvimento de um processo químico menos prejudiciais ao meio ambiente tem-se como alternativa a catálise heterogênea, uma vez que, a síntese química com esses catalisadores tem se mostrado promissores. Entre esses catalisadores as zeólitas, têm sido estudados em reações de esterificação, com resultados promissores, devido ao seu caráter ácido. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo sintetizar as zeólitas ZSM-5 e Beta para catalisar a reação de esterificação do eugenol com anidrido acético na reação de esterificação do eugenol, em adição foi avaliado o potencial ansiolítico usando zebrafish (*Danio rerio*) adulto do acetato de eugenila. Os catalisadores foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas de difração de raios X, análise química e análise textural por adsorção de N₂. As reações de esterificação foram realizadas com o eugenol, anidrido acético e catalisador (ZSM-5 e Beta com e sem troca iônica), afim de avaliar o tempo de reação entre os catalisadores. Através da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) e Cromatografia Líquida De Ultra Performance Espectrometria De Massas (CLAE-EM) foi possível monitorar as reações e a formação do AE em função do tempo. O estudo demonstrou que a conversão no tempo mínimo de 60 minutos na reação do eugenol limitante foi alcançada com a zeólita Beta, em seguida da ZSM-5TI com 120 minutos de reação e os catalisadores com tempo de 180 minutos. A reutilização do catalisador foi estudada com o catalisador que apresentou o menor tempo de reação, em que apresentou 3 ciclos de reutilização, com um aumento de 30 minutos em cada ciclo. O teste ansiolítico foi realizado in vivo no Zebrafish, foi avaliado a atividade locomotora teste de campo aberto, toxicidade aguda 96 h e o efeito ansiolítico foi avaliado no teste claro/escuro. O AE não apresentou toxicidade para zebrafish adulto até 96 h de análise, foi observado que a maior dose do AE (40 mg/kg) causou comprometimento motor, diferente das menores concentrações de 4 e 20 mg/kg da amostra que não provocou comprometimento. O AE se mostrou ansiolítico, pois os animais tratados permaneceram maior parte do tempo de análise na zona clara do aquário. Desta forma, os métodos usados no presente trabalho mostram-se eficientes para a obtenção dos catalisadores e para reação de obtenção do acetato de eugenila, visto que, a sua síntese com as zeólitas Beta e ZSM-5 com e sem troca iônica, e sem solventes tornam o processo menos prejudicial ao meio ambiente, além da atividade ansiolítica confirmada para o acetato de eugenila, demonstrando potencial para ser usado no desenvolvimento de compostos com propriedades ansiolíticas.

Palavras-chave: Zebrafish, Eugenol, Química verde, Catálise heterogênea.

ABSTRACT

Eugenyl acetate (EA) is a derivative of eugenol and has antifungal, antimicrobial, larvicidal and other actions. One of the ways to obtain this compound is through the esterification reaction, and for the development of a chemical process that is less harmful to the environment, heterogeneous catalysis is an alternative, since chemical synthesis with these catalysts has shown promise. Among these catalysts, zeolites have been studied in esterification reactions, with promising results. Therefore, this work aimed to synthesize ZSM-5 and Beta zeolites and use them in the eugenol esterification reaction, in order to evaluate the ester obtained for anxiolytic activity. The catalysts were synthesized and characterized by X-ray diffraction, chemical analysis and textural analysis by adsorption of N₂ at 77K. The esterification reactions were carried out with excess and limiting eugenol, acetic anhydride and 3% and 2% catalyst (ZSM-5 and Beta with and without ion exchange), in order to evaluate the reaction time between the catalysts. Through the technique of Thin Layer Chromatography (TLC) and Ultra Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometry (HPLC-MS) it was possible to monitor the reactions and the formation of the AE as a function of time. The kinetic study demonstrated that the conversion in a minimum time of 60 minutes in the limiting eugenol reaction was achieved with Beta zeolite, followed by ZSM-5TI with 120 minutes of reaction. Catalyst reuse was studied with Beta, which presented 3 reuse cycles, with an increase of 30 minutes in each cycle. The anxiolytic test was performed in vivo in Zebrafish with evaluation of locomotor activity (open field test - OFT), the acute toxicity at 96 h and the anxiolytic effect in the light/dark test. The AE did not show toxicity to adult zebrafish up to 96 h of analysis, it was observed that the highest dose of AE (40 mg/kg) caused motor impairment, unlike the lower concentrations of 4 and 20 mg/kg in the sample, which did not cause impairment. The AE proved to be anxiolytic, as the treated animals remained most of the analysis time in the clear zone of the aquarium. In this way, the methods used in the present work are efficient for obtaining the catalysts and eugenyl acetate, since its synthesis with Beta and ZSM-5 zeolites with and without ion exchange, and without solvents make the process less harmful to the environment, in addition to the anxiolytic activity confirmed for eugenyl acetate, showing potential to be used in the development of compounds with anxiolytic properties.

Keywords: Zeolites, Eugenol, Esterification, Heterogeneous catalysis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados das propriedades texturais da Beta e ZSM-5.....	39
Tabela 2: Porcentagem da composição química da beta com e sem troca iônica e ZMS-5 com e sem troca iônica.	39
Tabela 3: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação sem catalisador	42
Tabela 4: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5.....	43
Tabela 5: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5 TI.....	44
Tabela 6: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta.	45
Tabela 7: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta TI.	45
Tabela 8: Área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE.....	47
Tabela 9: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5.....	48
Tabela 10: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5 TI.....	49
Tabela 11: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta.	50
Tabela 12: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta TI.	51
Tabela 13: área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE para o primeiro ciclo	52
Tabela 14: área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE para o segundo ciclo.....	53
Tabela 15: área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Categorias de novas drogas aprovadas entre janeiro de 1981 e setembro de 2019.	16
Figura 2: Estrutura molecular do eugenol	17
Figura 3: Estrutura molecular do acetato de eugenila	19
Figura 4: Mecanismo genérico para a reação de esterificação	21
Figura 5: Proposta de mecanismo para a reação de acetilação do eugenol sobre catalisador sólido ácido.	22
Figura 6: Proposta de mecanismo da reação de esterificação com a piridina como catalisador.	23
Figura 7: Polimorfos A, B e C da estrutura da zeólita Beta.	26
Figura 8: Estrutura e sistema de poros da ZSM-5.	27
Figura 9: fluxograma do procedimento de síntese da Beta	28
Figura 10: fluxograma do procedimento de síntese da ZSM-5	29
Figura 11: Fluxograma das reações de esterificação com o eugenol em excesso e limitante, com catalise heterogênea e homogênea, e sem catalisador.	31
Figura 12: Representação da Placa de CCD eluída com hexano e trimetilamina (Eug=eugenol, AcE = acetato de eugenila).	33
Figura 13: Esquema representativo do Cromatograma do reagente e produto da reação de acetilação.	34
Figura 14: Espectro do pico molecular do acetato de eugenila.	34
Figura 15: Difração de Raios-X da zeólita Beta padrão IZA e sintetizada	37
Figura 16: : Difração de Raios-X da zeólita Beta padrão IZA e sintetizada	38
Figura 17: Isoterma de adsorção e dessorção de N ₂ a 77K das zeólitas Beta e ZSM-5.....	38
Figura 18: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação de acetilação no tempo 0, catalisado pela piridina, com o eugenol limitante.	41
Figura 19: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila sem catalisador, nos tempos de 0 min., 10 min., 30min., 60 min., 120min.	42
Figura 20: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120min.	43
Figura 21: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5 com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min.	43
Figura 22: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min	44
Figura 23: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min.	45
Figura 24: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenila/eugenol, para as reações com e sem catalisador heterogêneo	46
Figura 25: Reação para formar acetato de eugenila com o eugenol limitante sem catalisador CCD - Primeiro spot eugenol, spots no tempo de 0, 10, 30, 60 e 120 minutos	47
Figura 26: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120min. e 150min.	47
Figura 27: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5 com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120min, 150min. e 180 min.	48
Figura 28: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., e 60 min.	49
Figura 29: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120 min, 150 min e 180min.	50
Figura 30: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenila/eugenol, para as reações com catalisador heterogêneo	52
Figura 31: placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a primeira reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., e 60 min.	52
Figura 32: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a segunda reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 90 min.	53
Figura 33: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a 3ª reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 90 min. e 120 min.	54
Figura 34: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenila/eugenol, para as reações de reutilização	55

Figura 35: Efeito da amostra sob o comportamento locomotor do peixe-zebra adulto no Teste de Campo Aberto (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os asteriscos indicam significância.....	57
Figura 36: Efeito da amostra sob o comportamento locomotor do peixe-zebra adulto no Teste de Campo Aberto (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os asteriscos indicam significância.....	57
Figura 37: Efeito da AE na ansiedade do Zebrafish no teste claro/escuro (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para o teste de claro/escuro. Os asteriscos indicam significância.	59
Figura 38: Efeito da EUG na ansiedade do Zebrafish no teste claro/escuro (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para o teste de claro/escuro. Os asteriscos indicam significância.	59

LISTA DE SIGLAS

AE	Acetato de eugenila
*BEA	Topologia da Zeólita Beta definida pela International Zeolite Association
BET	Modelo matemático desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller
Beta	Sólido cristalino microporoso classificado como Zeólita
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE-EM	Cromatografia Líquida De Ultra Performance Espectrometria De Massas
EUG	Eugenol
DRX	Difração de Raios-X
FDA	Food and Drug Administration
FRX	Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IZA	International Zeolite Association
MFI	Mobi Five
Si/Al	Razão Silício/Alumínio
ZSM-5	Zeolite Socony Mobil número 5

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 GERAL	15
2.2 ESPECÍFICO	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	16
3.2 EUGENOL	17
3.3 DERIVADOS DO EUGENOL	18
3.3.1 Acetato de eugenila	19
3.4 REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO	20
3.5 CATÁLISE	24
3.6 ZEÓLITAS.....	25
3.6.1 Zeólita Beta.....	26
3.6.3 Zeólita ZSM-5	26
4 METODOLOGIA.....	28
4.1 SÍNTESE DA ZEÓLITA BETA.....	28
4.2 SÍNTESE DA ZEÓLITA ZSM-5.....	29
4.2 TROCA IÔNICA	30
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CATALISADORES.....	30
4.4 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO	31
4.4.1 Pré-teste com piridina	31
4.4.2 Reação com catalisadores heterogêneos.....	32
4.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....	32
4.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE- ESPECTROMETRIADE MASSAS (CLAE-EM).....	33
4.7 TESTE BIOLÓGICO	34
4.7.1 Dogras e medicamentos.....	34
4.7.2 Zebrafish.....	35
4.7.3 Protocolo geral.....	35
4.7.4 Avaliação da atividade locomotora (teste de campo aberto).....	35
4.7.5 Toxicidade aguda 96 h.....	35
4.7.6 Avaliação Ansiolítica.....	36
4.7.7 Análise estatística	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ZEÓLITAS	37
5.1.1 Difração de Raios-X	37
5.1.3 Espectroscopia de fluorescência de Raios-X	39
5.1 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO	41
5.1.2 Reação com eugenol em excesso com e sem catalisador	41
5.1.2 Reação com Eugenol limitante	46
5.1.3 Reutilização da Zeólita Beta	52
5.2 TESTE BIOLÓGICO	55
5.3.1 Toxicidade aguda 96 h	55
5.3.2 Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)	56
5.3.3 Avaliação Ansiolítica	58
6 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE A – CROMATOGRAFIA DAS REAÇÕES COM O EUGENOL EM EXCESSO	67
APÊNDICE B – CROMATOGRAFIA DAS REAÇÕES COM O EUGENOL LIMITANTE	72

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais e seus componentes têm recebido atenção especial como fonte de compostos bioativos potencialmente aplicáveis nas indústrias farmacêutica e cosmeceutica devido às suas propriedades farmacológicas. O óleo de Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), uma especiaria bastante usada na medicina popular apresenta uma importante fonte vegetal de compostos bioativos, tais como, flavonoides, ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidroxibenzóicos e hidroxifenil propeno. O principal composto bioativo é o eugenol, classificado como um fenilpropanóide (GENGATHARAN; RAHIM, 2023). Essa substância tem sido amplamente utilizada devido às suas propriedades biológicas, tais como, anestésica (HE *et al.*, 2020), anti-inflamatória (SARAPHANCHOTIWITTHAYA *et al.*, 2018) e antimicrobiana (QIAN *et al.*, 2020).

Entretanto, em altas concentrações o eugenol pode provocar efeitos adversos causar alergias, isso acontece devido à formação de radicais fenoxil e posteriormente, de quinina pela atividade pró-oxidante. Além disso, o maior obstáculo para estabelecer o eugenol como um novo candidato a medicamento, está associado às suas limitações farmacocinéticas que são, provavelmente, influenciadas por diversos fatores como a sua menor solubilidade aquosa, baixo peso molecular e instabilidade (BEGUM; RAY; RAHAMAN, 2022).

Para minimizar esses fatores, vários compostos têm sido sintetizados a partir do eugenol, e acredita-se que seus derivados acilados, esterificados, acetilados, entre outros, possuem propriedades superiores ao eugenol (LAROQUE *et al.*, 2015). Os derivados desse composto têm ganhado destaque devido às suas ações, como o acetato de eugenila, essa substância pode ser encontrada no cravo-da-Índia em pequena quantidade, este é um composto líquido amarelo claro, que apresentar propriedades bioativas como, atividade antifúngica (KAUR; KAUSHAL; RANI, 2019), antimicrobiana (VANIN *et al.*, 2014), larvicida (MACHADO *et al.*, 2017), antioxidante (KERAMAT *et al.*, 2021), bioativo de combustível (HADI *et al.*, 2021) e antirretroviral (SURURI; KARTIKA MAHARANI; WATI, 2023).

Neste contexto, a esterificação é uma das reações mais relevantes na síntese orgânica. Os principais exemplos de produtos de esterificação são os biocombustíveis como obiodiesel (VIEIRA *et al.*, 2018), alguns são utilizados como antimicrobiano (OLIVEIRA *et al.*, 2020), também são frequentemente empregados como componentes aromatizantes (ZARE; GOLMAKANI; SARDARIAN, 2020) e cosméticos como fragrâncias (KHAN *et al.*, 2015).

Na atualidade, a redução do impacto de processamento químico sobre o meio ambiente é uma obrigação para a indústria química, uma vez que, é exigido uma grande demanda para a

substituição de reagentes tóxicos e poluentes, por metodologias mais eficazes que reduzam ou eliminem a utilização e formação de substâncias perigosas (KEROSENEWALA *et al.*, 2022). No caso da reação de esterificação, o uso de catalisadores homogêneos pode trazer riscos ambientais, produção de resíduos tóxicos, maior custo de separação e purificação do produto (KHAN *et al.*, 2021).

Diante desta premissa, para o desenvolvimento de processos químicos menos prejudiciais ao meio ambiente, os catalisadores heterogêneos são uma alternativa que oferecem vantagens, tais como, a facilidade de separá-los dos produtos de reação, a ausência de corrosão do equipamento e a possibilidade de reuso do catalisador. Desta forma, os catalisadores heterogêneos como as zeólitas (PARMAR *et al.*, 2019), as resinas (TISCHER *et al.*, 2019), os óxidos de nióbio (STURT *et al.*, 2019), entre outros, têm sido relatados na literatura como catalisadores significativos para diversas reações.

As zeólitas são materiais cristalinos microporosos, as quais vêm se consolidando desde meados do século XX, sendo consideradas catalisadores relevantes para a indústria de refino de petróleo, indústria química e petroquímica, além de se destacarem em processos de controle ambiental. Esses catalisadores trazem várias vantagens devido a algumas de suas características, que são: alta área específica, elevada capacidade de adsorção, capacidade de troca iônica, seletividade de forma e estabilidades térmica e hidrotérmica (ZIJUN *et al.*, 2021; MASTERS; MASCHMEYER, 2011).

Os sólidos ácidos como as zeólitas têm sido amplamente estudados em reações de esterificação. E entre a grande diversidade desses catalisadores a ZSM-5 e Beta que podem apresentar uma relevante atividade catalítica para as reações de esterificação (MYA *et al.*, 2018; YUE *et al.*, 2016). Ambas possuem diferenças na estrutura cristalina, topologia microporosa e composição de elementos. A zeólita ZSM-5 possui uma estrutura *Mobi Five* (MFI) única, tem forte acidez, grande área de superfície específica. Enquanto que, a Beta possui alto silício com estrutura de canal cruzado de anel tridimensional de 12 elementos (FAN *et al.*, 2022).

Desta forma, a obtenção de compostos bioativos através de sínteses limpas e eficientes traz grande interesse para a comunidade científica. E a obtenção do acetato de eugenila via catálise zeolítica podem ser uma alternativa promissora, uma vez que, esses catalisadores possuem promissoras propriedades para reações de esterificação.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a atividade ansiolítica do acetato de eugenila obtido pelo processo de esterificação com catalisadores zeolíticos ZSM-5 e Beta com e sem troca iônica.

2.2 ESPECÍFICO

- Sintetizar as zeólitas ZSM-5 e Beta;
- Realizar a troca iônica nas zeólitas ZSM-5 e Beta;
- Determinar as propriedades físico-químicas (estrutura cristalina, composição química e propriedades texturais) das zeólitas obtidas;
- Executar o processo de esterificação do eugenol comercial com anidrido acético;
- Acompanhar as reações pela cromatografia de camada delgada (CCD);
- Realizar o estudo cinético das reações pela Cromatografia Líquida De Ultra Performance Espectrometria de Massas (CLAE-EM);
- Avaliar a potencialidade do acetato de eugenila como agente ansiolítico.

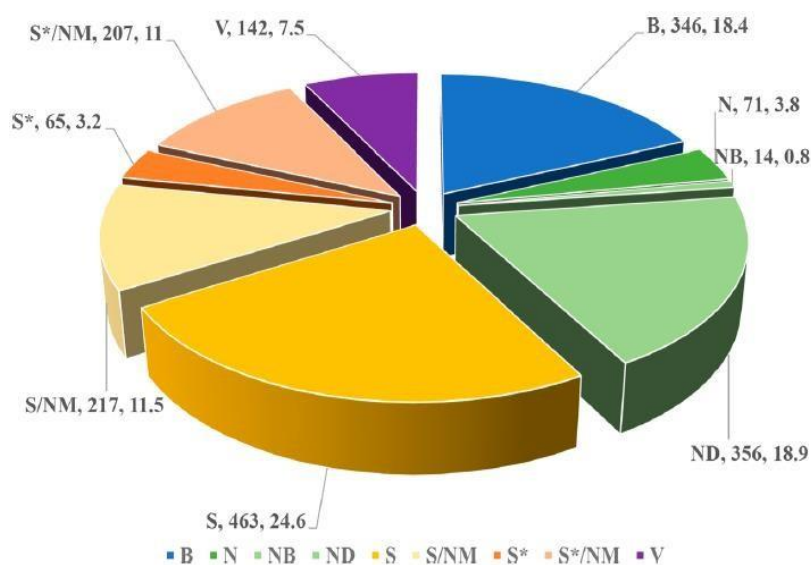
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 ESTUDO FITOQUÍMICO

O estudo fitoquímico permite que se possa conhecer os grupos de compostos químicos presentes nas plantas e, assim, através de análises é possível avaliar o que pode ser empregado na agricultura, no tratamento de doenças transmitidas por insetos, parasitas e a doenças que afetam humanos, animais e plantas (MENEZES FILHO; CASTRO, 2019).

A prospecção fitoquímica tem grande importância para contribuir com os conhecimentos do uso popular de extratos naturais e evidenciar cientificamente as atividades de seus componentes. Em uma perspectiva global, os produtos naturais desempenham papel fundamental na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. Newman e Cragg (2020) evidenciam o protagonismo dos produtos naturais na obtenção de novas drogas em seus trabalhos de revisão da literatura dos últimos anos. A Figura 1 apresenta os fármacos registrados na agência americana FDA (*Food and Drug Administration*) no período compreendido entre 1981 e 2019 de acordo com a classificação da origem dessas drogas.

Figura 1: Categorias de novas drogas aprovadas entre janeiro de 1981 e setembro de 2019. As categorias apresentadas na figura são classificadas de acordo com as legendas: **B**: biológica, usualmente um peptídeo ou proteína isolada de um organismo ou produzida por meios biotecnológicos; **N**: produto natural; **NB**: produto natural botânico; **ND**: derivado de produto natural, usualmente uma modificação semissintética; **S**: droga totalmente sintética; **S***: droga totalmente sintética com grupo farmacofórico proveniente de produto natural; **NM**: droga totalmente sintética que mimetiza produto natural existente; **V**: vacina.



Fonte: Cragg e Newman, 2020

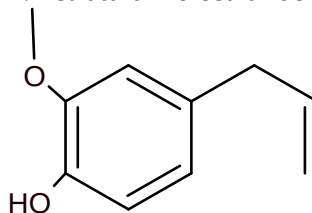
Em praticamente todas as categorias existe influência ou embasamento em produtos naturais. Os metabólitos secundários de plantas e micro-organismos (pequenas moléculas orgânicas), que são pertinentes às categorias N, NB, ND, S* e NM, respondem por uma influência direta ou indireta no registro de 1276 novas drogas no período de 1981 a 2019, uma participação de 67,6% no total de registros.

3.2 EUGENOL

Os óleos essenciais são constituídos por substâncias orgânicas e podem ser obtidos a partir de flores, brotos, folhas, sementes, cascas e caules. Apresentam uma importante viabilidade econômica, pelo fato de serem amplamente aplicados nas indústrias de perfumes, em cosméticos como aromatizantes, na agricultura e na área farmacêutica (ARRUDA *et al.*, 2022).

O eugenol (Figura 2) denominado como 4-Alil-2-Metoxifenol de acordo a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), é o principal composto identificado no óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*), que também está presente na canela (*Cinnamomum zeylanicum*), manjerição (*Ocimum gratissimum L.*), pimenta jamaica (*Pimenta dioica*), e em outras plantas e condimentos (GAZOLLA *et al.*, 2018).

Figura 2: Estrutura molecular do eugenol



Fonte: autoria própria.

Essa substância caracteriza-se como um óleo incolor ou amarelado com forte odor que apresenta peso molecular de 164,20 g/mol, densidade de 1,06 g/L. Sendo um ácido fraco pouco solúvel em água e solúvel em álcool etílico, éter, clorofórmio e óleo. Estudos experimentais

apresentam que o uso de eugenol pode possuir efeito potencial contra *Plasmodium* sp. com impacto na malária cerebral (PONTES *et al.*, 2021), além da ação anti- *Mycobacterium tuberculosis* (RAJ *et al.*, 2021).

O eugenol pode ser útil para aliviar a inflamação sistêmica provocada pela infecção por SARS-CoV-2, devido à interação direta do eugenol com as proteínas SARS-CoV-2. Apesar de poucas evidências, o eugenol pode desempenhar um papel importante no fortalecimento das funções imunológicas, regulando a reação inflamatória. Sendo um possível candidato benéfico para o tratamento com COVID-19 (LIU, 2023; PAIDI *et al.*, 2021).

3.3 DERIVADOS DO EUGENOL

O amplo efeito biológico apresentado pelo eugenol tem tornado essa substância promissora para o desenvolvimento de novas substâncias, através de modificações químicas em sua estrutura, proporcionando a formação de seus respectivos derivados.

Gazolla *et al.* (2018) realizou a conversão do eugenol em derivados contendo porções 1,2,3-triazólicas e avaliou a sua citotoxicidade constatando redução significativa na redução da viabilidade da linhagem de células leucêmicas. Embora as atividades descritas tenham sido moderadas, os autores acreditam que derivados triazólicos do eugenol podem apresentar uma classe de compostos promissora para obtenção de novos agentes quimioterápicos contra o câncer.

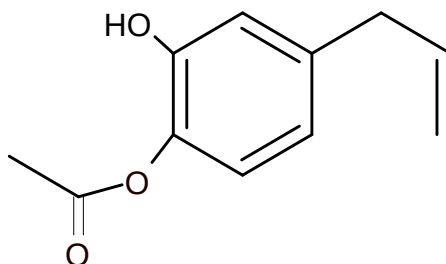
Estudos realizados por Fernandes *et al.* (2020), obtiveram derivados do eugenol O-alquilados, contendo uma cadeia propil com terminais como hidrogênio, hidroxila, éster, cloro e ácido carboxílico, que foram avaliados frente à atividade inseticida, resultando em um perfil de segurança mais conveniente para células humanas em comparação com o inseticida comercial clorpirifós, o que pode contribuir para o desenvolvimento de um caminho para o estudo de novas alternativas aos inseticidas atualmente em uso.

Maurya *et al.* (2018) apresentam estudos que evidenciam a aplicação tópica de eugenol e seus derivados como eficazes agentes anti-inflamatórios no tratamento de inflamações na pele e entre todos os derivados, o Cloroeugenol (6-cloro, 2-metoxi-4- (prop-2-en-1-il)-fenol) mostrou-se o mais eficiente. Além disso, o estudo recomenda a adequação de eugenol e seus derivados em formulações de produtos para cuidados com a pele para fins farmacêuticos com referência à inflamação da pele.

3.3.1 Acetato de eugenila

O acetato de eugenila (Acetato de 4-alil-2-metoxifenil) é classificado como um éster aromático, com odor característico ao óleo de cravo-da-índia, que apresenta peso molecular de 206,24 g/mol (Figura 3) (API *et al.*, 2020).

Figura 3: Estrutura molecular do acetato de eugenila



Fonte: autoria própria

Esse composto possui uma pequena disponibilidade na natureza, podendo ser encontrado nos óleos essenciais do manjeriço e do cravo-da-índia. Sua obtenção pode ocorrer a partir do seu isolamento dos óleos essenciais (LAZAREVIĆ *et al.*, 2018), entretanto devido a sua baixa concentração na natureza, o método mais comum para sua obtenção, tanto em escala industrial ou laboratorial é através da esterificação de Fischer, sendo realizado a acetilação direta do eugenol com anidrido acético (Figura X) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019 ; AFFONSO *et al.*, 2012).

O ácido γ -aminobutírico (GABA) é um neurotransmissor inibitório no cérebro, que se liga aos receptores GABAA heteropentaméricos. A atividade inibitória é a razão para os receptores GABAA serem alvo de drogas sedativas, hipnóticas e ansiolíticas. O potencial do acetileugenol na atividade do receptor GABAA foi descrito pela primeira vez em 2017, mostrando uma resposta de até $222 \pm 32\%$, para a concentração de $0,25\mu\text{g/mL}$, além disso, o composto potencializou a atividade do receptor GABAA em comparação com $1\mu\text{g/mL}$ de eugenol. Portanto, o acetileugenol pode ter atividade de modulação do receptor GABAA (SAHIN *et al.*, 2017).

O acetato de eugenila apresenta atividades anti-inflamatórias com diferentes ações em diversos tipos de células, além de ser útil na aplicação de terapia com abordagem anti-inflamatória. Essa substância pode ser também eficaz como substituto ou combinado com

eugenol para reduzir chances de toxicidade de alta dose (SARAPHANCHOTIWITTHAYA *et al.*, 2018).

Além disso, o acetato de eugenila apresenta resultados satisfatórios para atividade antimicrobiana, colaborando com a aplicação contra micro-organismos, sendo um composto relevante para aplicação indústria alimentícia (TISCHER *et al.*, 2019).

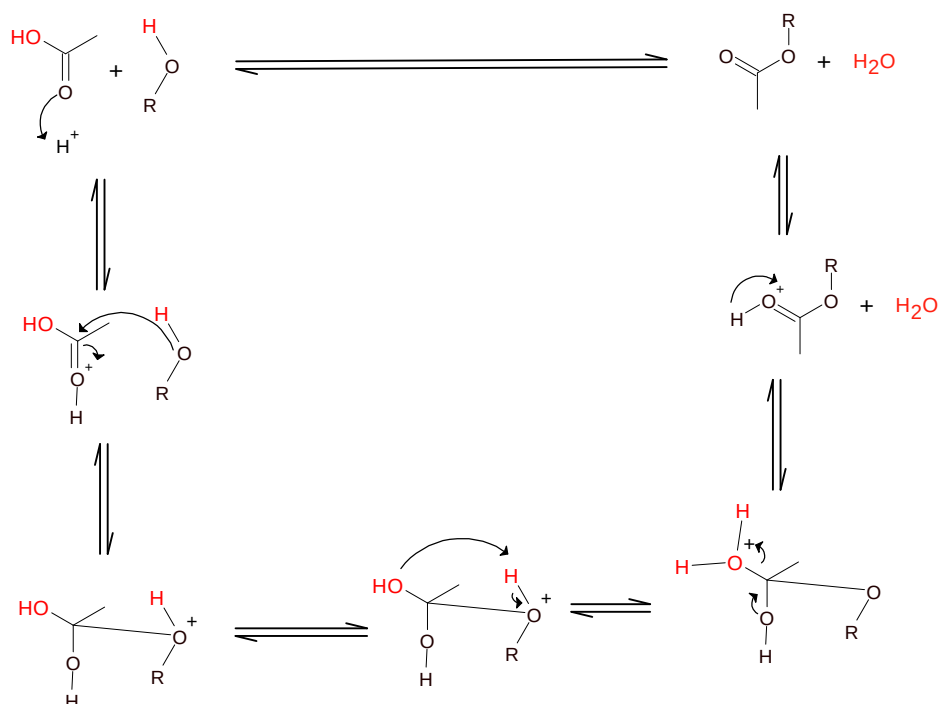
Machado *et al.* (2017), confirmaram o potencial do acetato de eugenila como agente larvicida frente ao mosquito *Aedes aegypti*, importante vetor de arboviroses, como dengue, Chikungunya, e o Zika vírus, os autores também relataram que a aplicação dessa substância é totalmente segura para o meio ambiente, ao contrário do larvicida convencional, uma vez que, o principal método de controle do mosquito é realizado com inseticidas e larvicidas, que são pulverizados em locais propício aos reservatórios larvais.

3.4 REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO

Em 1895, Fischer e Speier comprovaram que era possível obter ésteres por meio do aquecimento do ácido carboxílico e álcool na presença de um catalisador. Este experimento ficou conhecido como reação de esterificação de Fischer, sendo um dos principais procedimento para a produção de ésteres (CALVALCANTE *et al.*, 2015). Por se tratar de uma reação de equilíbrio para a formação dos produtos, é necessário utilizar o excesso de algum reagente, ou promover a retirada de um dos produtos frequentemente (CARDOSO *et al.*, 2020).

A reação de esterificação de Fischer acontece com a substituição nucleofílica do grupo acila catalisado por um ácido. O ácido mineral protona o átomo de oxigênio da carbonila, deixando o ácido carboxílico mais reativo ao ataque nucleofílico do álcool, formando um intermediário tetraédrico. Em seguida acontece a transferência de um próton de um oxigênio para outro, e transforma o grupo OH em um bom grupo de saída. Por fim, acontece a perda de um próton que irá regenera o catalisador ácido, formando o éster conforme mostra o mecanismo da Figura 4 (CALVALCANTE *et al.*, 2015).

Figura 4: Mecanismo representativo para a reação de esterificação



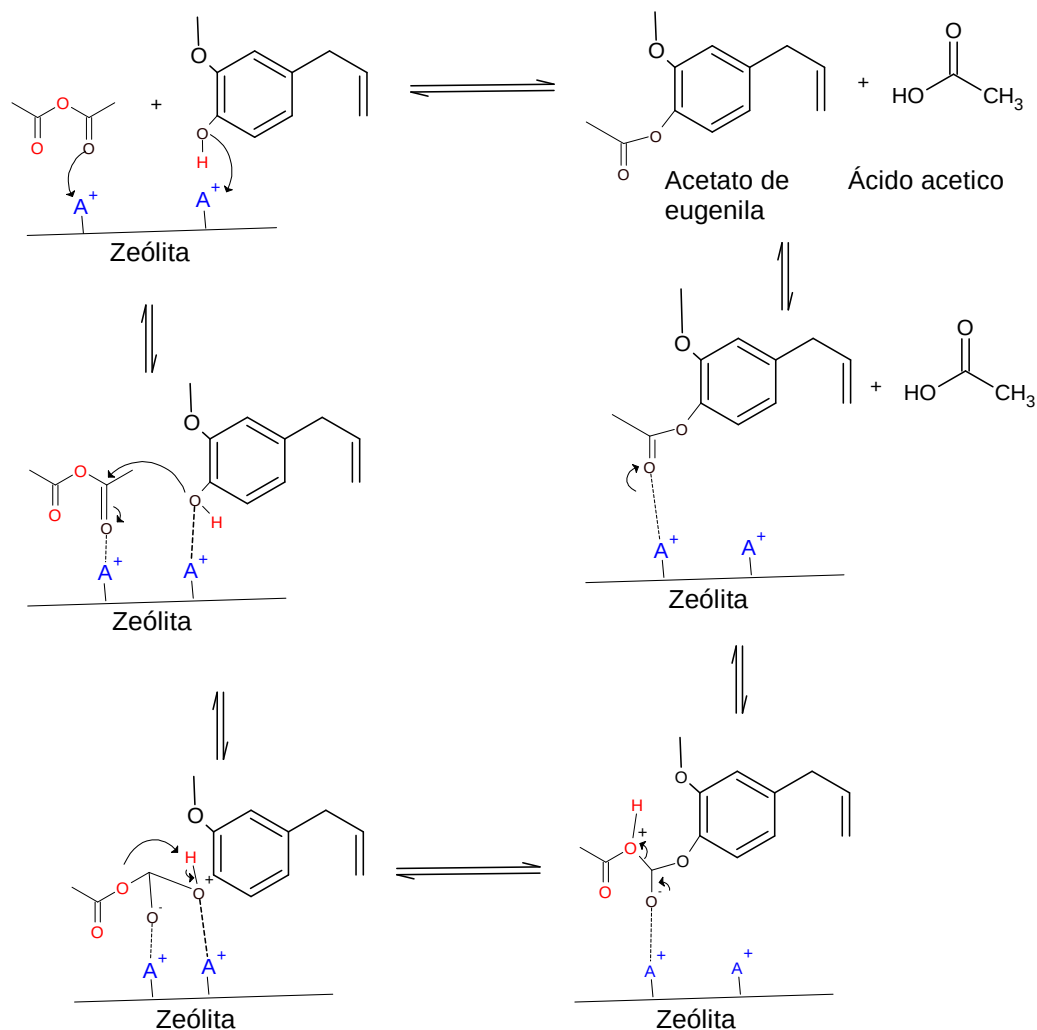
Fonte: Oliveira (2019)

Na reação entre o eugenol e o anidrido acético (Figura 5) ambos são adsorvidos nos sítios ativos dos catalisadores heterogêneos, uma vez que, tanto o eugenol quanto o anidrido acético apresentam polaridade semelhante, facilitando a adsorção dos reagentes nos sítios ativos na superfície do catalisador (YADAV; YADAV, 2012).

A reação começa com o processo de adsorção, em que os prótons (Al^{3+}) gerados a partir do catalisador atraem o par livre de elétrons no oxigênio da carbonila da molécula de anidrido acético provocando a protonação do anidrido acético. Em seguida, o par de elétrons do oxigênio da molécula de eugenol ataca o eletrófilo, formando um intermediário tetraédrico protonado. Neste intermediário tetraédrico acontece a transferência e rearranjo dos prótons da hidroxila (H^+) para o oxigênio da carbonila (anidrido acético) que resulta na formação do intermediário tetraédrico rearranjado (CALVALCANTE et al., 2015; OLIVEIRA et al, 2019).

Na dessorção dos produtos da reação, a perda de uma molécula de ácido acético resulta em um éster protonado, que ainda está adsorvido ao sítio ácido na superfície do catalisador. Então, com a difusão do ácido acético, é dado início a dessorção do éster (protonado) com o deslocamento dos elétrons do sítio ácido (catalisador) para o oxigênio da carbonila, quebrando a ligação e desprotonando o éster e regenerando o sítio ácido do catalisador (OLIVEIRA et al, 2019). Na figura 5 é possível observar a proposta de mecanismo da reação de acetilação do eugenol com anidrido acético através da catálise de uma Zeólita.

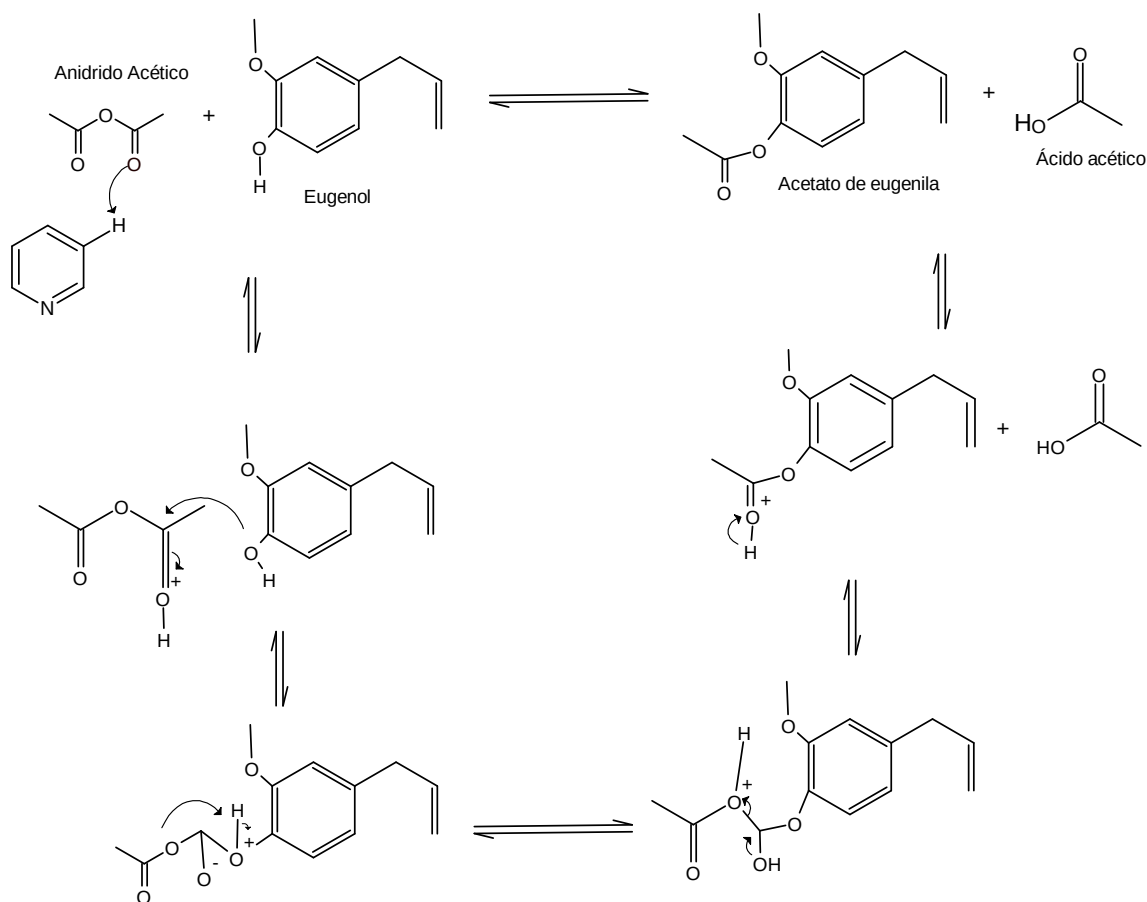
Figura 5: Proposta de mecanismo para a reação de acetilação do eugenol sobre catalisador sólido ácido.



Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*, 2019 e Oliveira (2019)

O mecanismo da acetilação do eugenol por catálise com piridina, inicia pelo ataque do par de elétrons da hidroxila na carbonila do anidrido. Na segunda etapa, a piridina (base fraca), ataca o próton do álcool, em seguida o par de elétrons passa para o oxigênio para neutraliza-lo, na terceira etapa, ao voltar a ligação da carbonila, é formado um bom grupo de saída (ácido acético) para a formação do éster, mecanismo da Figura 6.

Figura 6: Proposta de mecanismo da reação de esterificação com a piridina como catalisador.



Fonte: adaptado de Clayden; Greeves; Warren, 2012.

As reações de esterificação têm sido amplamente usadas nas indústrias de química fina e petroquímica. Os ésteres alifáticos e aromáticos com diversos substituintes são constantemente empregados como plastificantes, solventes, perfumes, sabores e precursores para o desenvolvimento de diversos produtos farmacêuticos. No entanto, existe um interesse constante por parte dos pesquisadores para aumentar o rendimento do éster e a qualidade do produto final, sugestões para alterar as condições da reação, como o catalisador que pode ser químico ou bioquímico e sua concentração, temperatura, razão molar de reagentes, tempo de reação, etc (YADAV; YADAV, 2012).

Para que a reação avance e tenha-se a compensação da baixa reatividade dos ácidos carboxílicos, catalisadores orgânicos ou inorgânicos adequados são empregados para colaborar com a acelerar a reação enquanto acontece a produção do éster (KHAN *et al.*, 2021).

Fawaz et al. (2020), relataram que a esterificação do ácido linoleico com metanol usando a zeólitas HZSM-5 com relações Si/Al distintas apresentaram um rendimento de éster metílico

de 79,78% em 4 h de tempo de reação, com razão molar de metanol para ácido linoleico de 6:1 e 180 °C e mantida após 4 ciclos de reação consecutivos após a regeneração do catalisador. Sendo considerando um resultado promissor para a esterificação desse material.

Oliveira *et al.* (2020) usaram o catalisador MF4W15 obtiveram uma conversão de 98% para a esterificação do acetato de eugenila a 100°C e 1 h foi alcançada em uma cinética de pseudo-primeira ordem em relação à concentração do substrato, sendo afirmado pelos autores a eficiência da esterificação do derivado do eugenol.

3.5 CATÁLISE

O catalisador é uma substância que provoca o aumento da velocidade de uma determinada reação química, possibilitando a formação de substâncias intermediárias e seletividade de produtos, sem que ocorra o seu consumo durante a reação (BERNARDO-GUSMÃO *et al.*, 2017). Os catalisadores podem ser classificados como, homogêneo, heterogêneo (TISCHER *et al.*, 2019), e enzimático (SANTOS; PUNA; GOMES, 2020).

Na catálise homogênea geralmente é usado catalisadores químicos bem definidos ou complexos coordenados, estes, em conjunto com os reagentes, são molecularmente dispersos no meio de reação, o qual pode ser líquido ou gasoso, proporcionando melhor interação entre os componentes e, conseqüentemente, resultando em um bom rendimento da reação. No entanto, eles tornam a separação complexa ao formar subprodutos no decorrer da neutralização, além de serem ambientalmente tóxicos e difíceis de manusear (KHAN *et al.*, 2021).

A biocatálise utiliza sistema biológico, enzimas, para converter o substrato em um produto definido. Esse tipo de catalisador apresenta notável atividade, seletividade, e em geral, agem sob condições suaves de temperatura e pH. Entretanto, são moléculas sensíveis e desnaturadas em condições extremas de reação, outras duas desvantagens são o alto custo das enzimas e limitações de transferência de massa resultando em baixas conversões (SANTOS; PUNA; GOMES, 2020; KHAN *et al.*, 2021).

Os catalisadores heterogêneos mais comuns são os sólidos finamente divididos ou porosos, que mostram uma grande área superficial para reação, usados em reações em fase gasosa ou fase líquida. O motivo mais atraente que proporciona a crescente pesquisa sobre os catalisadores heterogêneos, é o fato deles trazerem diversas vantagens nos processos catalíticos, especificamente: baixo poder de corrosão, facilidade em recuperação para reciclo no processo, acidez controlada devido à composição, elevada área superficial e seletividade de produtos (BERNARDO-GUSMÃO, *et al.* 2017).

Neste contexto, os catalisadores heterogêneos se enquadram no 9º princípio da Química verde, que consiste na aplicação de catalisadores para aumentar a velocidade e o rendimento dos processos químicos de maneira que não traga danos ao meio ambiente, uma vez que, a Química verde visa a obtenção de produtos químicos e processos que reduzam ou eliminam a utilização ou produção de substâncias perigosas (PRADO, 2003; SOUZA, 2019).

3.6 ZEÓLITAS

A palavra de origem grega composta a partir dos termos *Zeo* (ferver) e *Lithos* (pedra), em 1756 foram descobertas por Axel Fredrick Cronsted. Essa nova classe de minerais recebeu essa designação, devido ao fato de que quando são aquecidas, é percebido a eliminação de vapor de água, oriundo da evaporação de água adsorvida nos microporos do mineral (conhecido como estilbita) (MASTERS; MASCHMEYER, 2011).

O termo zeólita é dado a uma série de aluminossilicatos cristalinos, em geral apresenta metais alcalinos e alcalinos terrosos como compensadores de carga. A estrutura desses catalisadores dispõe um arranjo tridimensional de tetraedros TO_4 ($T = Si$ ou Al) ligados por átomos de oxigênio para formar estruturas maiores, e por fim, as redes cristalinas bem definidas (VERMA; KAUR, 2021).

Os arranjos de tetraedros da zeólita (SiO_4 e AlO_4) atribuem carga negativa ao material, devido à presença do átomo de alumínio. Assim, ela é compensada por cátions de metais alcalinos, como por exemplo o Na ou K, e/ou de metais alcalinos-terrosos como o, Mg ou Ca, porém são de fácil substituição por outros cátions. Os cátions trocáveis ficam localizados dentro das cavidades para equilibrar a carga negativa, a presença de cátions também pode induzir na acidez e basicidade do material (VICENTE *et al.*, 2016).

Devido à estrutura cristalina que consiste em uma rede tetraédrica tridimensional de silício e alumínio ligados entre si por átomos de oxigênio comuns, os zeólitos são naturalmente porosos. Esses poros são produto de gaiolas interligadas, resultantes do arranjo estrutural tetraédrico dos átomos.

Seguindo a definição da IUPAC, as Zeólias classificam-se como microporosos que são aqueles materiais com tamanhos de poros menores que 2nm. Os materiais com tamanhos de poros entre 2nm e 50nm são classificados como mesoporosos, enquanto aqueles com diâmetros de poros maiores que 50nm pertencem à categoria macroporosas (Moshoeshoe *et al.*, 2017).

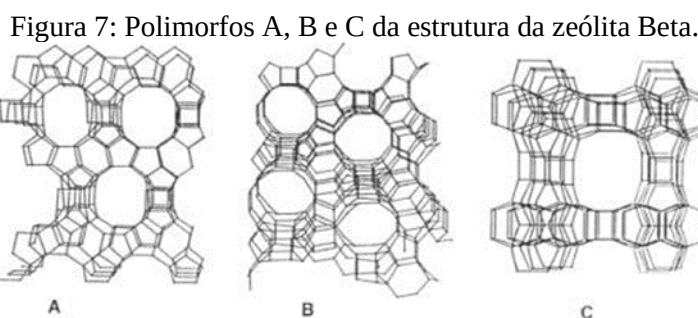
O controle no desenvolvimento da síntese e o ajuste de variáveis, tais como: tempo e pH, temperatura, concentração e fontes dos reagentes, podem levar a materiais com propriedades diferenciadas, e contribuem de maneira significativa para obter zeólitas com

características específicas (BRAGA; MORGON, 2007).

3.6.1 Zeólita Beta

A zeólita Beta foi sintetizada pela primeira vez por Wadlinger em 1967. A estrutura desse sólido cristalino, que tem sido amplamente estudado, consiste em dois canais retos mutuamente perpendiculares, cada um possuindo uma seção transversal e um canal senoidal de dimensões $6,6 \times 6,7 \text{ \AA}$ e $5,6 \times 5,6 \text{ \AA}$, que dão origem as cavidades de interseção tridimensionais abrangendo anéis de 12 membros. Além disso, a estrutura desse tipo de zeólita tem uma elevada densidade de defeitos de empilhamento, em relação às outras zeólitas (CHAVES *et al.*, 2015; EKTEFA; DARIAN; SOLTANALI, 2022).

A zeólita beta é composta por um intercrescimento de duas estruturas diferentes denominadas de polimorfos (A e B), além disso, ainda temos a possibilidade que exista um terceiro (C). Esses três polimorfos hipotéticos são descritos na Figura 7 (PERGHER *et al.* 2005).



Fonte: Pergher et al. (2005).

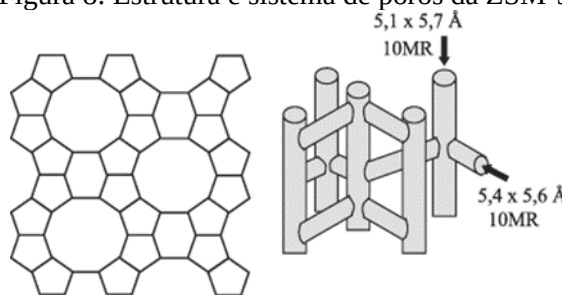
A presença de grandes microporos são um dos principais atrativos da estrutura Beta, pois, eles facilitam o processamento de moléculas volumosas. Em virtude da sua acidez e elevada área externa, este material é amplamente usado em vários processos industriais, abrangendo craqueamento catalítico, isomerização e alquilação (CHAVES *et al.*, 2015).

3.6.3 Zeólita ZSM-5

Esse material está inserido em uma família de zeólitas caracterizadas com as iniciais de sua criadora ZSM (“Zeolite Socony Mobil”) sintetizada pela primeira vez em 1963, designada como pentasil. Estas zeólitas se caracterizam por mostrar elevado grau percentual desilício (relação Si/Al entendida entre 15 e infinito) (MASTERS; MASCHMEYER, 2011; MIGNONI *et al.*, 2007).

A estrutura da ZSM-5 é formada a partir do arranjo de unidades de oito ciclos de cinco tetraedros (Unidades Pentasil) resultando na estrutura tridimensional da ZSM-5. Ela também apresenta canais interconectados nos quais a abertura abrange anéis de 10 membros, com dimensões de $5,1 \times 5,5 \text{ \AA}$ e $5,3 \times 5,6 \text{ \AA}$. Na Figura 8 observa-se a representação esquemática dos canais formados na estrutura da zeólita ZSM-5 (SHARMA *et al.*, 2023; PERGHER *et al.* 2005).

Figura 8: Estrutura e sistema de poros da ZSM-5.



Fonte: Pergher *et al* (2005)

Em sua síntese são utilizados vários reagentes, tais como, sílica, água, aluminato de sódio, hidróxido de sódio, reagente orgânico, entre outros. Esse procedimento é realizado em autoclaves com aquecimento e a cristalização da fase zeolítica pode levar de uma a duas semanas (MIGNONI *et al.*, 2007).

Além disso, essa zeólita tem recebido atenção devido à sua elevada tolerância pela presença de impurezas no decorrer do processo de cristalização, o que é interessante para ajuste de suas propriedades. E devido à sua elevada estabilidade térmica, alta seletividade de forma, o seu uso torna-se bastante promissor industrialmente como catalisador (Ma *et al.* 2020).

4 METODOLOGIA

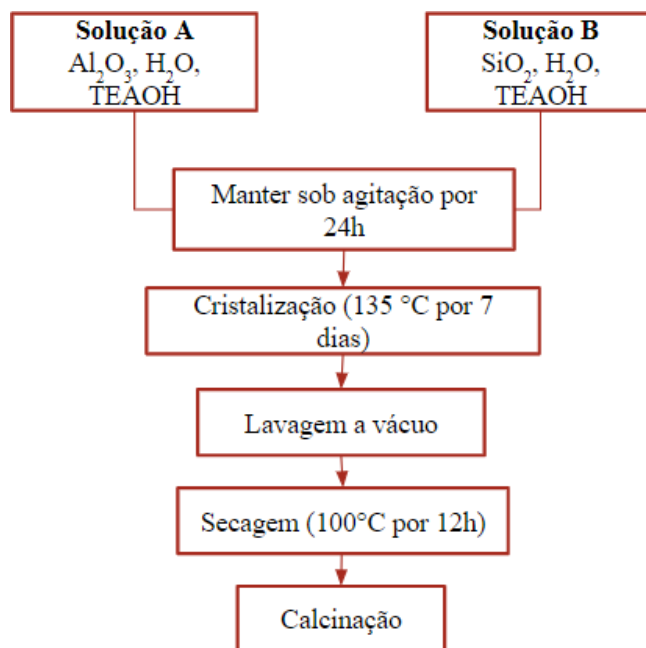
4.1 SÍNTESE DA ZEÓLITA BETA

A síntese da zeólita Beta foi realizada de acordo com o procedimento descrito na literatura (CAMBLOR, *et al.*, 1997), com os seguintes reagentes: sílica *Fumed* (Aldrich), alumínio metálico (Aldrich), como direcionador orgânico (*templates*) uma solução de 40% do hidróxido de tetraetilamônio (TEAOH, Aldrich) e água destilada como solvente. Com as quantidades em massa dos reagentes para proporção estequiométrica de: 1,5 Al_2O_3 ; 60 SiO_2 ; 15,5 TEOH; 1000 H_2O , razão molar silício/alumínio igual a 20.

Inicialmente foi dissolvido o alumínio metálico em hidróxido de tetraetilamônio (Aldrich) e água destilada requerida no processo, mantendo-se por 2h sob agitação magnética (Solução A). Para a solução B, foi dissolvida a sílica *Fumed* em hidróxido de tetraetilamônio e o água destilada sob agitação magnética constante durante 2 horas até a completa homogeneização.

Em seguida, as misturas A e B foram unidas e mantidas em agitação durante 24 horas em temperatura ambiente, em seguida a solução foi levada para a cristalização ao longo de 7 dias em autoclave a 135°C na estufa. Por fim, o material foi resfriado, filtrado com a bomba a vácuo, lavado com água destilada e seco a 100°C durante 12 horas, e finalmente calcinado a 550°C durante 6 horas em atmosfera de ar. A Figura 9 demonstra o fluxograma do procedimento de síntese da Beta.

Figura 9: fluxograma do procedimento de síntese da Zeólita Beta



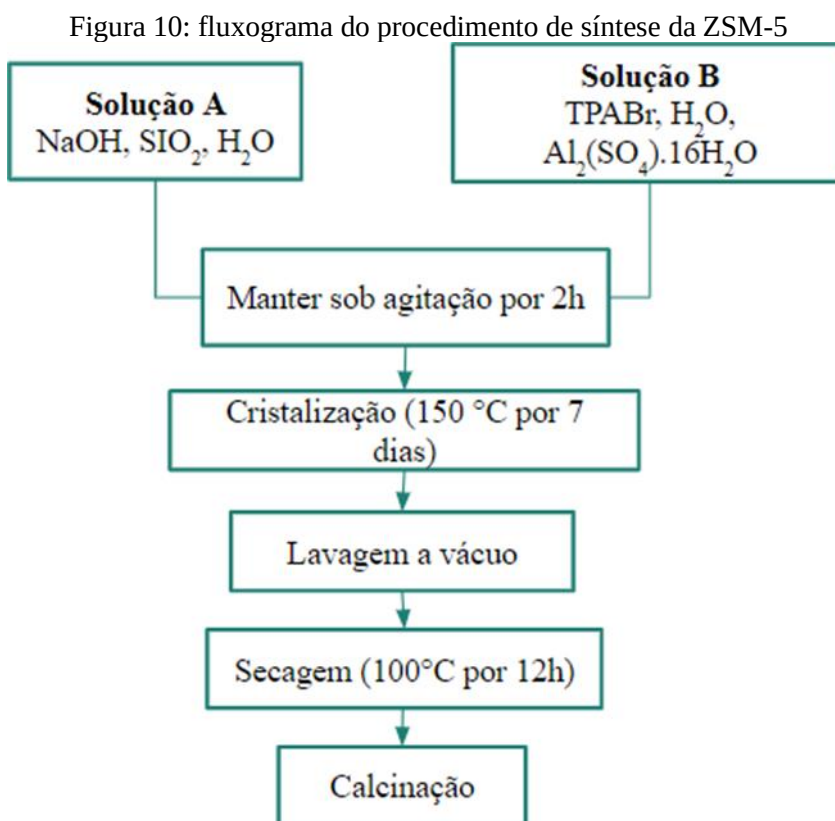
Fonte: autoria própria.

4.2 SÍNTESE DA ZEÓLITA ZSM-5

A síntese da ZSM-5 foi realizada com os seguintes reagentes: Sílica Fumed (Aldrich), hidróxido de sódio (NaOH, 98% Sigma Aldrich), brometo de tetrapropilamônio (TPABr, 98%, Aldrich), sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4) \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 93%, Cinética) e água destilada como solvente. Utilizando as seguintes proporções molares: 10,6 TPABr; 14,3 Na_2O ; 2,0 Al_2O_3 ; 100 SiO_2 ; 2000 H_2O , razão molar silício/alumínio igual a 25. A síntese foi seguida pelo procedimento adaptado de Caldeira *et al* (2016).

Uma solução (solução A) contendo hidróxido de sódio (NaOH), sílica Fumed e água destilada foi mantida sob agitação por 1 hora. Posteriormente, foi realizada uma segunda solução (solução B), contendo brometo de tetrapropilamônio (TPABr), sulfato de alumínio hexadecahidratado ($\text{Al}_2(\text{SO}_4) \cdot 16\text{H}_2\text{O}$) e água destilada sob 1 hora de agitação.

Posteriormente, as soluções A e B foram misturadas e mantidas sob agitação por mais 2 horas. O gel precursor foi então colocado em autoclave de teflon e levado à estufa em temperatura de 150°C por 7 dias. O material final foi retirado da estufa e lavado com água destilada, seco a 100°C por 12h e calcinado a 550°C com rampa de aquecimento de $1^\circ\text{C}/\text{min}$ durante 6 horas. A Figura 10 demonstra o fluxograma do procedimento de síntese da ZSM-5.



Fonte: autoria própria.

4.2 TROCA IÔNICA

A troca iônica foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Caldeira (2011) com algumas adaptações. Esse processo foi realizado com a adição de aproximadamente 1g de catalisador calcinado e seco em um balão de fundo chato de 250 mL. Em seguida foi adicionado 100 mL de solução $1,0 \text{ mol}^{\text{L}^{-1}}$ de Cloreto de potássio (KCl - Dinâmica), com aquecimento a 80°C , e sob agitação por 2 horas em um sistema de refluxo, logo após essa etapa, a mistura foi filtrada a vácuo, o sólido foi lavado com de água destilada, posteriormente, seco em estufa a 100°C por 12 horas. Visando obter as amostras com alto grau de troca, esse procedimento foi realizado três vezes para a Zeólita Beta e duas vezes para a ZSM-5.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CATALISADORES

Os materiais preparados foram caracterizados através das seguintes técnicas: difração de raios X, análise química e análise textural por adsorção de N_2 .

Na difração de raios-X (DRX) foi utilizado o método do pó, em um equipamento modelo Mini Flex II (RIGAKU), com radiação de $\text{CuK}\alpha$, em uma voltagem de 30 kV e corrente de tubo de 15 mA. As medidas foram realizadas através do método de varredura, de 2θ de 5 a 50° , passo de 0,01 graus/s e tempo de 1s.

A análise das composições químicas foi realizada através da fluorescência de raios X (FRX). Essa técnica permite quantificar os elementos; Silício (Si) e Alumínio (Al). O equipamento usado foi o EDX-7000 da 72 Shimadzu, com feixe de 10 mm de diâmetro, as amostras foram colocadas em um suporte de polipropileno, com tempo de duração de 100s.

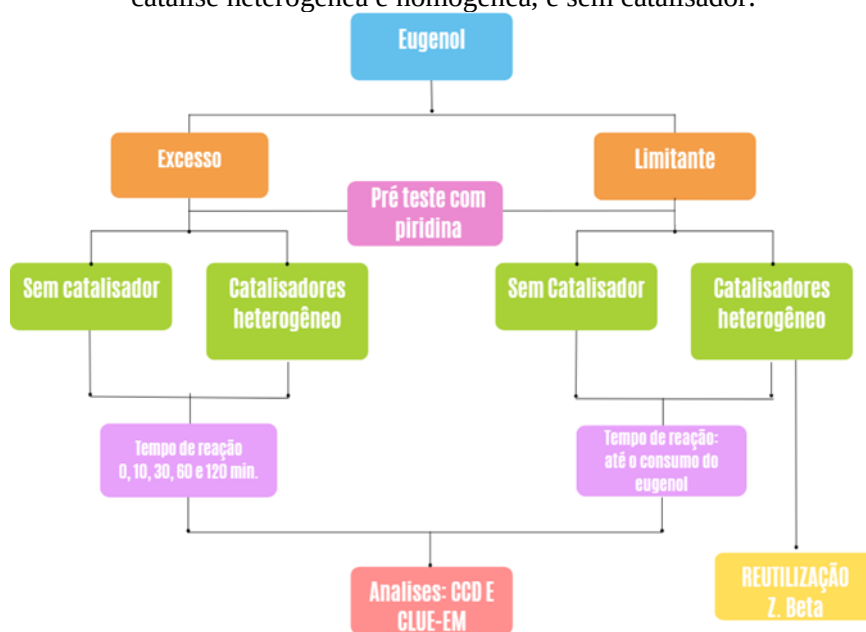
A caracterização textural dos materiais foi realizada pelo equipamento da MICROMERITICS modelo ASAP 2020, com bomba turbo-molecular. Antes do início da análise, aproximadamente 100 mg de amostra foram tratadas a vácuo, a uma temperatura de 300°C por 10 h. As medidas foram realizadas na temperatura do N_2 líquido (77K) para obtenção das isotermas de adsorção e dessorção. A área específica (S_{BET}) foi calculada pelo método B.E.T. (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938), a área externa (S_{EXT}), o Volume total (V_{TOTAL}) foi calculado pelo método de Gurvich em $p/p^{\circ} = 0,98$ (LIMA *et al.*, 2021), e a área microporosa (S_{MIC}) e o volume microporoso (V_{MIC}), foram calculados pelo método t-plot (AMANI *et al.*, 2018).

Estas análises foram executadas por colaborações científicas ao grupo de pesquisa do Laboratório de Catálise, Ambiente e Materiais (LACAM) da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN).

4.4 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO

As reações foram desenvolvidas afim de avaliar a atividade dos catalisadores heterogêneos (Beta; Beta T. I.; ZSM-5; ZSM-5 T. I.) e comparar o seu desempenho com um catalisador homogêneo (piridina) e a reação sem catalisador. O resumo de todas as reações realizadas pode ser observado no fluxograma da Figura 11.

Figura 11: Fluxograma das reações de esterificação com o eugenol em excesso e limitante, com catalise heterogênea e homogênea, e sem catalisador.



Fonte: autoria própria.

4.4.1 Pré-teste com piridina

A reação foi realizada conforme descreve Silva et al (2018), em que, 328mg (2 mmol) do eugenol foram dissolvidos em 306mg (3 mmol) de anidrido acético, em 1 mL de piridina, sob agitação e a temperatura ambiente. Também foram feitas reações com o eugenol sendo o reagente limitante, os reagentes usados foram: 164mg (1 mmol) de eugenol, 510 mg (5 mmol) de anidrido acético e 1mL de piridina, mistura ficou sob agitação e aquecimento a 90°C. O procedimento foi acompanhado por CCD, utilizando como eluente uma mistura binária de hexano/trietilamina 90:10, até a completa acetilação do fenol.

Para o tratamento da reação foram adicionados 20mL de acetato de etila ao meio reacional, que foi então particionado com uma solução aquosa 20% (m/v) de Sulfato de Cobre II pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (3x20mL), logo em seguida a fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) (3x10mL) e por fim, seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e concentrada.

4.4.2 Reação com catalisadores heterogêneos

Para serem utilizados nas reações, todos os catalisadores foram primeiramente ativados a 100 °C por 1 h. A reação de esterificação foi realizada em um sistema de banho maria, em frasco de penicilina com os seguintes reagentes: 492 mg (3 mmol) de eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$ - Êxodo científica), 306 mg (3 mmol) de anidrido acético ($C_4H_6O_3$ - Merck) e 3% de catalisador, com razão molar de, a reação ficou sob agitação e aquecimento a aproximadamente 90°C. Além disso, foi realizada uma reação sem catalisador nas mesmas condições, afim de analisar a sua cinética.

Também foram feitas reações com o eugenol sendo o reagente limitante, nela foram testados todos os catalisadores no mesmo sistema da reação anterior, os reagentes usados foram: 164 (1 mmol) mg de eugenol, 510 mg (5 mmol) de anidrido acético e 2% de catalisador, o tempo da reação se deu até o consumo do fenol. Em todas reações foram colhidas alíquotas de 20 mg para análises em CLAE-EM e monitoramento por CCD.

Após a reação o catalisador foi removido com o auxílio da centrifuga, para o tratamento foi adicionado ao meio reacional uma quantidade de água destilada correspondente ao volume total da reação (3x), em seguida foi adicionado diclorometano (CH_2Cl_2 - Neon) (3x) na fase orgânica, por fim seca com sulfato de sódio (Na_2SO_4 - Vetec) e o solvente evaporado em temperatura ambiente.

Para o estudo de reutilização, foi escolhido o catalisador que teve o melhor desempenho na reação, após a primeira execução, ele foi regenerado e reutilizado para execuções posteriores. O catalisador foi recuperado do meio reacional com o auxílio de uma centrifuga, posteriormente, lavado com água destilada e seco em estufa a 110 °C por 10h. Por fim, foi calcinado a 500 °C por 5 h e reaproveitado para um novo ciclo.

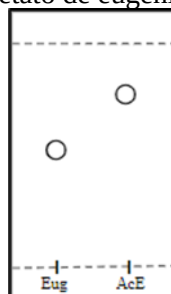
4.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizando placas cromatográficas de alumínio revestida com sílica gel (merck). Para a eluição foi utilizado uma mistura de hexano/trietilamina 90:10. As cromatoplas foram observadas em câmara com lâmpada UV.

Através da análise de CCD foi possível monitorar a reação no tempo de 0, 10, 30, 60 e 120 minutos. Para observar a formação do produto foi colocado um *spot* do eugenol em cada placa, em que foi possível comparar o comportamento de cada composto. Desta forma, foi identificado o aparecimento de um ponto superior ao do eugenol, indicando uma possível

formação do acetato de eugenila (Figura 12), conforme é apontado na literatura (DEFRANCESCO, 2021).

Figura 12: Representação da Placa de CCD eluida com hexano e trimetilamina (Eug=eugenol, AcE = acetato de eugenila).



Fonte: autoria própria

4.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE-ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLAE-EM)

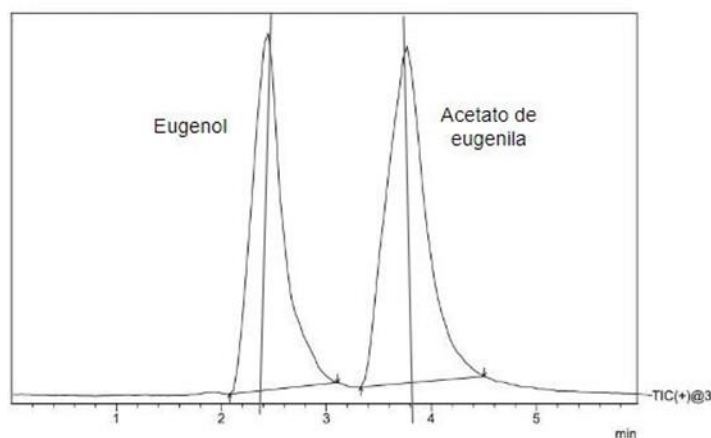
O equipamento é composto de duas bombas LC - 30AD, um desgaseificador DGU – 20A5R, um auto - sampler Sil - 30AC, um forno de coluna CTO - 30AC e um CBM –20A controlador. A separação ocorreu em uma coluna Restek (Pinnacle DB AQ C18 de tamanho 50 x 2,1 mm, com partículas de 1,9 μm). A operação do cromatógrafo ocorreu com um fluxo de 0,2 mL min⁻¹, volume de injeção de 5 μL e as temperaturas do amostrador e do forno da coluna foram de 15 e 40 °C, respectivamente. A fase móvel A (água grau HPLC com 0,1% de ácido fórmico) e fase móvel B (acetonitrila grau HPLC). A eluição ocorreu de forma isocrática, com o fluxo contendo 70% de B.

O espectrômetro de massa triplo quadrupolo da série LCMS-8040 (Shimadzu, Tóquio, Japão) com fonte de ionização por eletrospray (ESI), foi operado nos modos de ionização positivo. A tensão de interface foi ajustada para 4,5 kV, temperatura da linha de dessolvatação foi de 250 °C, fluxo de gás nitrogênio de nebulização com 3 L min⁻¹; temperatura do bloco de 400 °C, fluxo de gás nitrogênio de secagem com 15 L/min; gás argônio de colisão com pressão de 230 kPa. Esta análise foi executada por colaborações científicas com o Centro de Pesquisa em Ciências Vegetais do Semi-Árido (CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

No cromatograma deve ser formado dois picos com diferentes tempos de retenção, para o eugenol e seu derivado, como mostra a figura 13. Os tempos de retenção devem ser de aproximadamente 2,5 minutos para o eugenol e 3,8 minutos para o acetato de eugenila, respectivamente. Todos os cromatogramas referentes as análises de tempos podem ser encontras nos Apêndices A (cromatografia das reações com o eugenol em excesso) e B

(cromatografia das reações com o eugenol limitante).

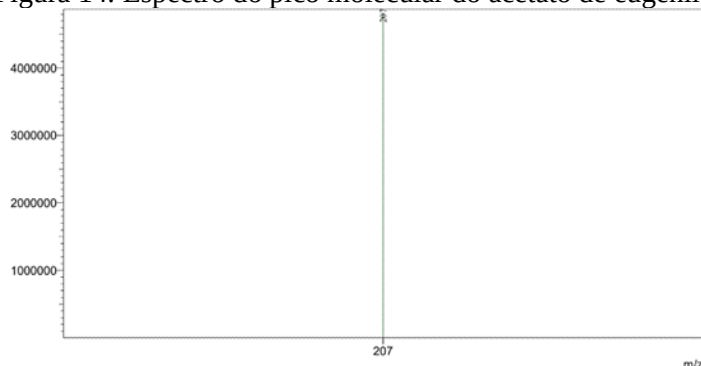
Figura 13: Esquema representativo do Cromatograma do reagente e produto da reação de acetilação.



Fonte: autoria própria.

A espectrometria de massas (Figura 14) deve confirma a produção do acetato de eugenila, com a presença do pico íon molecular $[M+H]^+$ em m/z 207. Levando em consideração a formação de aduto de H, o pico deve ser compatível com massa molecular esperada para o acetato de eugenila

Figura 14: Espectro do pico molecular do acetato de eugenila.



Fonte: autoria própria.

4.7 TESTE BIOLÓGICO

A atividade ansiolítica do Acetato de eugenila e eugenol foram realizadas em parceria com o Grupo de Pesquisa em Química de Produtos Naturais e Sintéticos e Bioensaios com Zebrafish (QPNSZ) da Universidade do Ceará (UECE).

4.7.1 Dogras e medicamentos

Foram utilizadas as seguintes substâncias: Diazepam (DZP, Neo Química[®]), Flumazenil (Fmz; Sandoz[®]), Dimetilsulfóxido (3% DMSO; Dynamic[®]) e Pentilenetetrazol (PTZ, Sigma-Aldrich).

4.7.2 Zebrafish

Zebrafish (*Danio rerio*) (idade de 90 a 120 dias; $0,4 \pm 0,1$ g, $3,5 \pm 0,5$ cm), silvestre, de ambos os sexos, foi adquirido em loja local (Fortaleza, CE). Os animais foram mantidos em um aquário de vidro ($30 \times 15 \times 20$ cm) de 10 L ($n = 3 / L$), a uma temperatura de 25 ± 2 ° C, em ciclos claro-escuro de 24 h com água clorada (ProtecPlus®) e bomba de ar com filtros submersos, sob uma temperatura de 25 ° C e pH 7,0, Ciclo circadiano de 10 - 14 h (claro/escuro). Os peixes receberam ração (*Spirulina*®) ad libitum 24 h antes dos experimentos. Antes das aplicações dos medicamentos, os animais foram anestesiados em água gelada e após os experimentos, os animais foram sacrificados por imersão em água gelada (2 e 4 ° C) por 1 min até a perda dos movimentos operculares. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA-UECE; nº 04983945/2021), estando de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal.

4.7.3 Protocolo geral

Os Zfa de ambos os sexos foram selecionados aleatoriamente nos experimentos, anestesiados em água gelada e transferidos para uma esponja úmida, tratados com 20 µL das amostras (4; 20 e 40 mg/kg) ou Diazepam (4 mg/kg), ou DMSO a 3 % (grupo controle – diluente das drogas) via intraperitoneal (*i.p.*). Em seguida, os animais foram acondicionados individualmente em béquer de vidro (250 mL) contendo 150 mL de água do aquário e mantidos em repouso. Nos tratamentos intraperitoneais (*i.p.*), foram utilizadas seringas de insulina (0,5 mL; UltraFine® BD) com uma agulha de calibre 30G.

4.7.4 Avaliação da atividade locomotora (teste de campo aberto)

O teste de campo aberto foi realizado para avaliar a presença ou ausência de alterações na coordenação motora em animais (Ferreira *et al.*, 2021), seja devido ao efeito ansiolítico e/ou relaxamento intramuscular.

4.7.5 Toxicidade aguda 96 h

Após o teste de campo aberto, os peixes ($n = 6 /$ grupo) foram tratados via intraperitoneal com 20 µL das amostras (4; 20 e 40 mg/kg) diluídas em DMSO 3%. Como controle negativo foi utilizado DMSO 3%. Após 24, 48, 72 e 96h horas, os valores obtidos com o número de ZFa mortos foram submetidos à análise estatística, estimando-se a dose letal para matar 50% (DL_{50}) ZFa através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalos de confiança de

95% (Arellano-Aguiar et al., 2015).

4.7.6 Avaliação Ansiolítica

O comportamento de ansiedade de um animal pode ser observado através do teste claro/escuro. Semelhante aos roedores, o zebrafish evita naturalmente as áreas iluminadas (Gonçalves *et al.*, 2020). O experimento foi realizado em um aquário de vidro (30 cm x 15 cm x 20 cm) dividido em uma área clara e uma área escura. O aquário foi cheio até 3 cm com água da torneira sem cloro, o que simulou um novo ambiente raso diferente do aquário convencional e capaz de induzir comportamentos de ansiedade. Nos animais (n = 6/grupo) 20 µL da amostra foi administrado por via *i.p.* nas doses de 4; 20 e 40 mg/kg. Os grupos de controle negativo e positivo consistiram em DMSO a 3% e solução de Diazepam 4 mg/kg, respectivamente. Após 30 min, os animais foram colocados individualmente na zona clara e o efeito ansiolítico foi medido com base no tempo gasto na zona clara do aquário dentro de 5 minutos de observação (Gebauer *et al.*, 2011).

4.7.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como valores da média ± erro padrão da média para cada grupo de 6 animais. Depois de confirmar a normalidade de distribuição e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram submetidas à análise de variância - ANOVA unidirecional ou two-way ANOVA, seguido do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o software GraphPad Prism v. 8.0. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

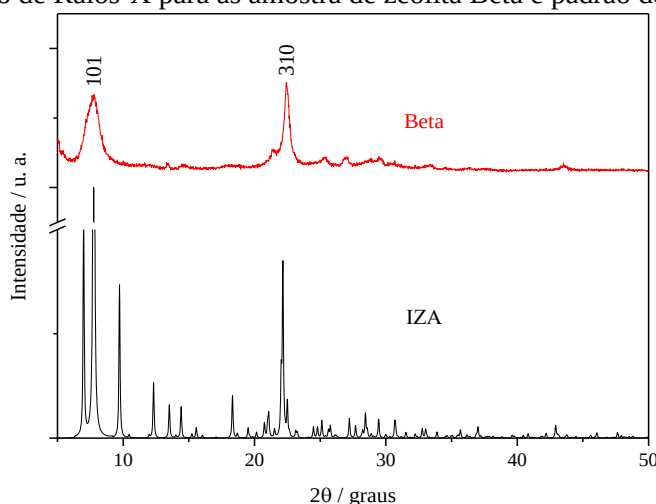
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ZEÓLITAS

5.1.1 Difração de Raios-X

Com todos os catalisadores obtidos foi realizada a análise de DRX com o intuito de verificar se estes apresentaram a formação de sua estrutura cristalina.

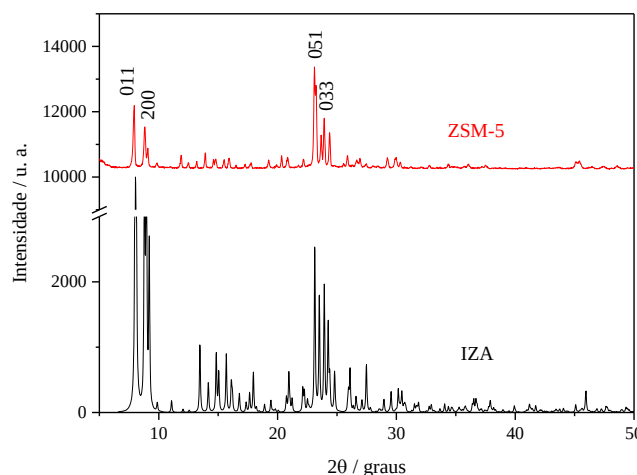
O resultado da análise pode ser observado na Figura 15, que mostra as reflexões verificadas para a zeólita Beta sintetizada na faixa de 5 a 50° 2 θ . Percebe-se que a amostra apresenta reflexões majoritárias, correspondentes aos índices de Miller [(1 0 1) e (3 1 0)], referentes à estrutura do tipo *BEA. Estes resultados confirmam a obtenção da zeólita de interesse, conforme o padrão estabelecido pela IZA (*International Zeolite Association*) conforme é relatado na literatura (MENSAH *et al.*, 2021).

Figura 15: Difração de Raios-X para as amostra de zeólita Beta e padrão do banco de dados IZA.



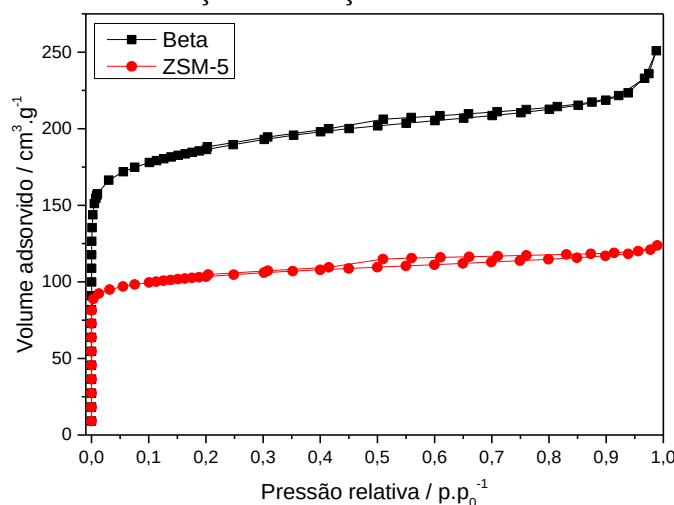
A Figura 16 mostra os difratogramas de raios-X da zeólita ZSM-5 padrão IZA e da zeólita ZSM-5 sintetizada na faixa de 5° a 50° 2 θ . Observa-se, que a amostra apresenta reflexões índices de Miller [(0 1 1), (2 0 0), (0 5 1), (0 3 3)] característicos de ZSM-5, seguindo as estruturas zeolíticas padrão do banco internacional de zeólitas IZA, o mesmo foi relatado na literatura (LIMA *et al.*, 2021; MENSAH *et al.*, 2021).

Figura 16: : Difração de Raios-X para as amostra de zeólita Beta e padrão do banco de dados IZA.



A análise de adsorção e dessorção de nitrogênio (N_2) a 77K foi realizada nas amostras de Beta e ZSM-5 com o objetivo de determinar as propriedades texturais, como, área específica, áreas externa e de microporos, volume de microporos e volume de mesoporos. As isotermas para ambas zeólitas estão apresentadas na Figura 17.

Figura 17: Isoterma de adsorção e dessorção de N_2 a 77K das zeólitas Beta e ZSM-5



As isotermas para a Zeólita Beta e ZSM-5 apresentam perfil das isotermas que exibe adsorção acentuada a baixas pressões relativas (p/p_0^1), atribuído ao preenchimento dos microporos e ausência de histerese. Conforme a IUPAC, como isotermas do tipo I (a) que são caracterizadas como materiais com distribuições de tamanhos de poros em uma faixa ampla, abrangendo microporos mais vastos (THOMMES et al., 2015). Logo, essas zeólitas apresentaram perfis de isoterma para sólidos zeolíticos cristalinos microporosos, de acordo com a literatura (LIMA et al., 2021; CALDEIRA et al., 2017).

Na Tabela 01 é possível observar os dados das propriedades texturais da Zeólita Beta e

ZSM-5. As propriedades texturais demonstraram que a zeólita Beta exibe elevada área específica (S_{BET}) e microporosa (S_{MIC}) e volume microporoso (V_{MIC}), confirmando a obtenção de material com alta área específica e presença de microporos, característico da sua estrutura.

Em relação a ZSM-5 a zeólita beta apresentou todas as propriedades texturais superiores, tal fato pode estar relacionado com estrutura cristalina da beta que compreende um sistema tridimensional de poros com aberturas, abrangendo anéis de 12 membros, além de possuir uma elevada área externa (CHAVES *et al.*, 2015). A estrutura porosa da ZSM-5 é constituída por dois sistemas de canais elípticos interconectados, os quais se interceptam perpendicularmente, contendo anéis de 10 membros (SHARMA *et al.*, 2023), o que pode estar influenciando em suas propriedades texturais que são inferiores às da Beta.

Tabela 1: Dados das propriedades texturais da Beta e ZSM-5.

Amostras	S_{BET}^a (m^2/g)	S_{EXT}^a (m^2/g)	S_{MIC}^b (m^2/g)	V_{MIC}^b (cm^3/g)	V_{TOTAL}^c (cm^3/g)
Beta	634	383	250	0,13	0,38
ZSM-5	350	116	234	0,11	0,19

a – Área específica de BET aplicada com critérios de Rouquerol.

b – Método t-plot

c – Método de Gurvich em $p/p^\circ = 0,98$

5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X

A técnica de Fluorescência de Raios X (FRX) forneceu os teores de Silício e Alumínio das amostras dos catalisadores sintetizados com e sem troca iônica, descritos na Tabela 02. A partir da identificação da composição química por cada elemento foi possível calcular a razão molar e a razão Si/Al real e comparar com o valor teórico planejado para a síntese.

Tabela 2: Porcentagem da composição química da beta com e sem troca iônica e ZMS-5 com e sem troca iônica.

Amostras	Si (%)	Al (%)	K (%)	Si/Al _{real}	Si/Al _{teórico}
Beta	90,9	9,0	1,4	10,6	20
Beta com troca iônica	92,6	7,3	9,0	16,5	-
ZSM-5	96,7	3,2	-	31,3	25
ZSM-5 com troca iônica	97,1	2,8	3,8	34,6	-

A razão silício/alumínio na estrutura da Beta ficou abaixo do esperado que era de 20. Esse fator, pode ser explicado tendo em vista que, no decorrer da etapa de envelhecimento do

processo de síntese, a sílica pode hidrolisar e perder uma quantidade pequena de silício que fica dissolvida, sendo responsável pela diminuição da razão Si/Al (CALDEIRA, 2013).

Em contrapartida, a razão Si/Al da ZSM-5 foi superior ao teórico que era de 25. Acredita-se que esse resultado se deu, devido a quantidade de alumínio que foi menor do que o esperado. Contudo, isso pode ser atribuído ao fato desta análise ser semiquantitativa, podendo distinguir os valores acima ou abaixo do esperado.

Quanto aos catalisadores que foram submetidos a troca iônica, observa-se um aumento na quantidade de K, indicado que o procedimento foi eficaz, obtendo um material mais básico, devido aos metais alcalinos (Li, Na, K, Rb, Cs) como cátions compensadores de carga exibirem basicidade crescente com o aumento do tamanho do cátion, pois a eletronegatividade dos cátions influencia a quantidade de carga negativa nos átomos de oxigênio na estrutura (WALTON; ABNEY; LEVAN, 2006). Além disso, houve um aumento na razão Si/Al, em quanto que a quantidade de Al na estrutura diminuiu, uma vez que, na estrutura zeolítica, a quantidade de alumínio é inversamente proporcional à razão Si/Al.

5.1 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO

Investigações preliminares sobre a formação do produto durante a esterificação do eugenol com anidrido foram usadas para sondar a atividade catalítica dos materiais. Todos os catalisadores sólidos testados foram ativos em comparação com a piridina.

A esterificação do eugenol foi realizada com a piridina, afim de avaliar o comportamento da reação com um catalisador homogêneo. Apesar do rápido consumo do fenol (Figura 18), a piridina apresenta diversas desvantagens, em termos de risco ambiental, geração de grandes quantidades de resíduos tóxicos, manuseio e purificação do produto (KHAN *et al.*, 2021).

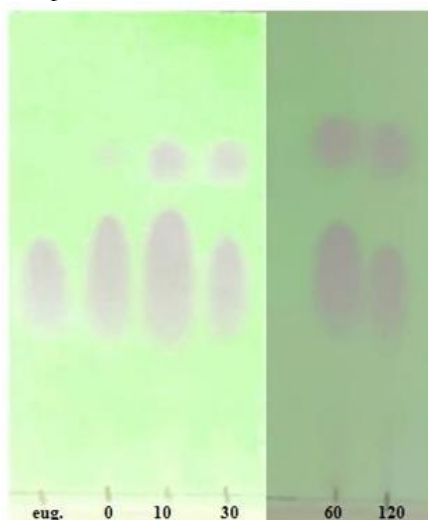
Figura 18: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação de acetilação no tempo 0, catalisado pela piridina, com o eugenol limitante.



5.1.2 Reação com eugenol em excesso com e sem catalisador

No estudo da reação sem catalisador, observou-se a formação do acetato de eugenila em temperatura de 90°C (Figura 19), no entanto, para que ocorra uma alta taxa de conversão do produto em uma reação de esterificação sem catalisador, é necessário manter condições com alta temperatura de operação (523 K–673 K) e alta pressão (10–25 MPa), que torna o processo extremamente intensivo em energia. Logo, o uso de alta temperatura e pressão, exigirá medidas de segurança e unidades reativas caras aumentam significativamente o custo do processo (KHAN *et al.*, 2021).

Figura 19: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila sem catalisador, nos tempos de 0 min., 10 min., 30min., 60 min., 120min.



Os dados de CLAE-EM da área dos picos apresentados pelos cromatogramas referente ao processo da reação sem catalisador estão apresentados na tabela 3, em que, podemos confirmar que com o aumento do fator de relação entre o eugenol e acetato de eugenila, a área do eugenol diminui, no decorrer da reação. Todos os cromatogramas das reações em que o eugenol estar em excesso encontram-se no Apêndice A.

Tabela 3: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação sem catalisador

Amostra / Tempo (min.)	A_{EUG}	A_{AE}	FATOR
0	$2,23^{+07}$	$1,55^{+07}$	$6,96^{-01}$
10	$1,70^{+07}$	$2,03^{+07}$	$1,19^{+00}$
30	$2,14^{+07}$	$2,97^{+07}$	$1,39^{+00}$
60	$1,54^{+07}$	$2,88^{+07}$	$1,87^{+00}$
120	$1,27^{+07}$	$3,15^{+07}$	$2,48^{+00}$

Para as reações com os catalisadores heterogêneos, nas Figuras 20 e 21 observa-se a formação do éster de eugenol com a ZSM-5 com e sem troca iônica no decorrer da reação sob a temperatura de 90°C, 120 min., em que, ao mesmo tempo que o acetato e eugenila é formado o eugenol é consumido, de acordo com a Figura 20 a fundamentação teórica.

Figura 20: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120min.

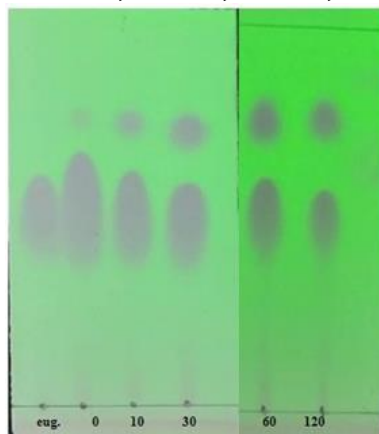
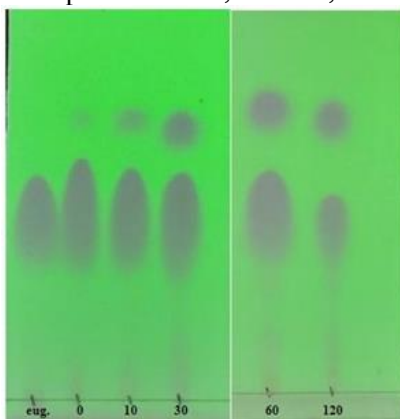


Figura 21: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5 com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min.



Para as reações com a Zeólita ZSM-5 e ZSM-5 TI, os dados da área dos picos apresentados pelos cromatogramas de CLAE-EM estão apresentados na tabela 4 e 5, em que, podemos observar o aumento do fator de relação entre o eugenol e acetato de eugenila, a área do eugenol diminui, no decorrer da reação. E os valores da área do AE para a reação com a ZSM-5 foram maiores do que com os ZSM-5 TI.

Tabela 4: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5.

Amostra / Tempo(min.)	A_{EUG}	A_{AE}	FATOR
0	$3,53^{+07}$	$1,78^{+07}$	$5,02^{-01}$
10	$2,07^{+07}$	$2,88^{+07}$	$1,39^{+00}$
30	$2,07^{+07}$	$4,13^{+07}$	$2,00^{+00}$
60	$1,65^{+07}$	$3,90^{+07}$	$2,37^{+00}$
120	$1,67^{+07}$	$4,92^{+07}$	$2,95^{+00}$

Tabela 5: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5 TI

Amostra / Tempo(min.)	A_{EUG}	A_{AE}	FATOR
0	$3,44^{+07}$	$1,69^{+07}$	$4,93^{-01}$
10	$2,95^{+07}$	$2,46^{+07}$	$8,33^{-01}$
30	$2,85^{+07}$	$3,34^{+07}$	$1,17^{+00}$
60	$2,48^{+07}$	$3,49^{+07}$	$1,41^{+00}$
120	$1,91^{+07}$	$4,34^{+07}$	$2,27^{+00}$

Um fator que influencia na cinética da reação é a razão Si/Al do catalisador. Como foi relatado por Fawaz et al. (2020), a HZSM-5 com maior acidez e menor razão Si/Al alcança altas conversões. Concordando com o fato de que a atividade melhora quando a quantidade de sítios de ácido de Brønsted aumenta com relações Si/Al mais baixas. Logo, a razão Si/Al influencia na acidez podendo alterar a cinética das reações de esterificação.

O mesmo efeito de tempo e a influência Si/Al. Foi observado para as reações contendo as Zeólitas Beta com e sem troca iônica (Figuras 22 e 23), em função do tempo, observou-se a o consumo do eugenol aumentar gradualmente ao decorrer da reação como era esperado para um processo de esterificação.

Além disso, pela formação dos pontos referentes ao Acetato de eugenila e eugenol, acredita-se que exista uma influência da Si/Al, uma vez que, a Beta possui uma razão Si/Al menor que Beta com troca iônica.

Figura 22: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min

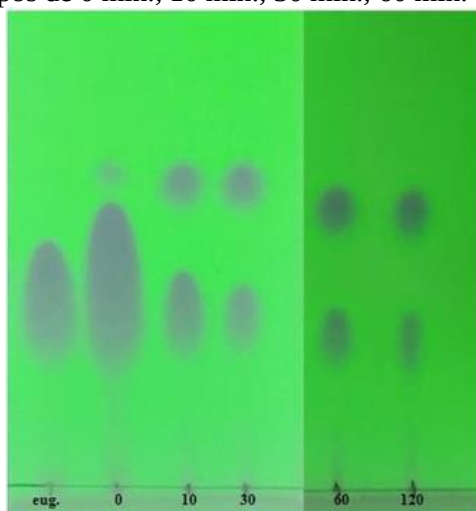
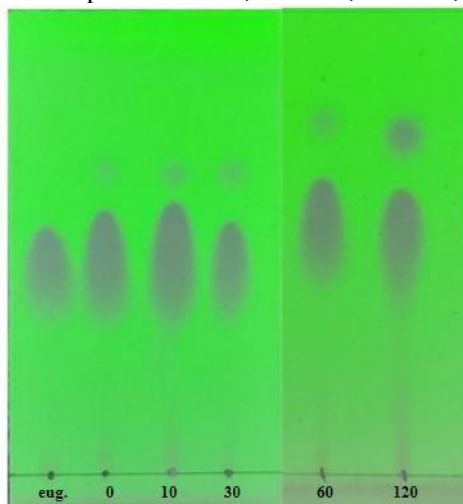


Figura 23: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 120 min.



As reações com a Beta e Beta TI apresentaram nos dados de CLAE-EM área dos picos com valores distantes (Tabelas 6 e 7,) enquanto que a Beta apresentou uma alta área de formação do AE no decorrer da reação, a Beta TI não mostrou valores altos para o AE. Esses fatores podem estar relacionados com a acidez do catalisador, uma vez que, o catalisador sem troca iônica é mais ácido.

Tabela 6: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta.

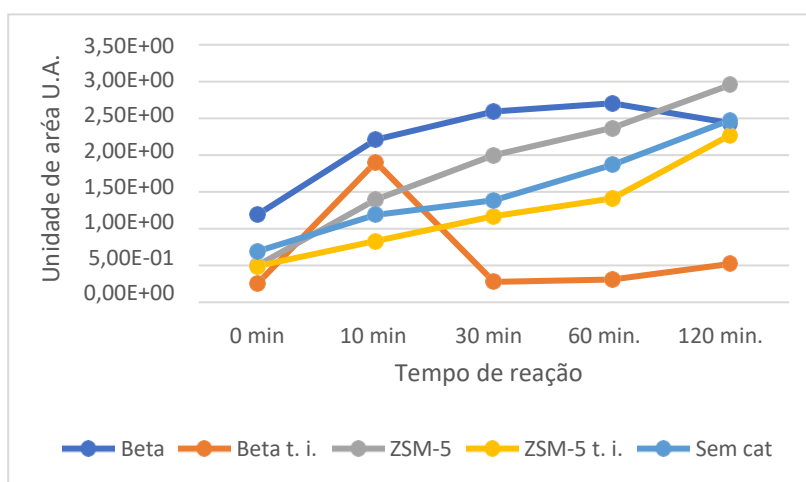
Amostra / Tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	2,67 ⁺⁰⁷	3,19 ⁺⁰⁷	1,19 ⁺⁰⁰
10	2,23 ⁺⁰⁷	4,94 ⁺⁰⁷	2,21 ⁺⁰⁰
30	2,33 ⁺⁰⁷	6,06 ⁺⁰⁷	2,60 ⁺⁰⁰
60	2,14 ⁺⁰⁷	5,79 ⁺⁰⁷	2,70 ⁺⁰⁰
120	2,69 ⁺⁰⁷	6,54 ⁺⁰⁷	2,44 ⁺⁰⁰

Tabela 7: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta TI.

Amostra/ Tempo(min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	9,48 ⁺⁰⁶	2,48 ⁺⁰⁶	2,61 ⁻⁰¹
10	3,90 ⁺⁰⁶	7,44 ⁺⁰⁶	1,91 ⁺⁰⁰
30	3,63 ⁺⁰⁷	1,01 ⁺⁰⁷	2,80 ⁻⁰¹
60	3,89 ⁺⁰⁷	1,21 ⁺⁰⁷	3,11 ⁻⁰¹
120	2,96 ⁺⁰⁷	1,55E ⁰⁷	5,24 ⁻⁰¹

O gráfico da figura 24 apresenta todos os fatores de relação da área entre o eugenol e acetato de eugenila, através da comparação desses dados é possível observar que a Beta apresenta um alto fator até 60 minutos de reação em relação aos demais materiais testados. Em seguida, a ZSM-5 aparece com uma relação maior em 120 minutos de reação, os catalisadores sem a troca iônica apresentaram maiores fatores do que a esterificação sem catalisador. Os catalisadores com troca iônica apresentaram um fator relativamente baixo, não ultrapassando o fator da reação sem catalisador, com exceção da BetaTI que em 10 min. mostrou um alto valor, mas, logo em seguida a relação teve uma queda. Todos os cromatogramas das reações em que o eugenol é o limitante encontram-se no Apêndice A.

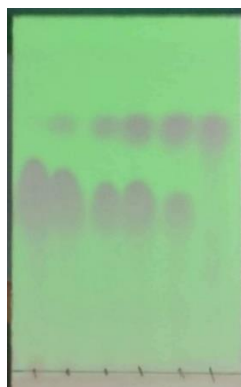
Figura 24: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenila/eugenol, para as reações com e sem catalisador heterogêneo



5.1.2 Reação com Eugenol limitante

O processo de acetilação com o eugenol sendo o limitante foi realizada afim de avaliar o tempo em que o fenol é consumido, além disso, reações sem o catalisador foram feitas com o intuito de certificar que o produto não formava, uma vez que, com o eugenol em excesso houve a formação do acetato de eugenila. O procedimento foi analisado em CCD com tempos variados contado em minutos (Figura 25).

Figura 25: Reação para formar acetato de eugenila com o eugenol limitante sem catalisador CCD - Primeiro spot eugenol, spots no tempo de 0, 10, 30, 60 e 120 minutos



Os dados de CLAE-EM da área dos picos apresentados pelos cromatogramas referente ao processo da reação sem catalisador estão apresentados na tabela 8. Com base nesses dados, pode-se confirmar que o presente procedimento sem catalisador com o eugenol limitante, não apresenta uma alta formação do produto, sendo necessário a presença de uma substância para acelera o procedimento e em pouco tempo ter o completo consumo do eugenol.

Tabela 8: Área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE

Amostra/tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	1,35 ⁺⁰⁷	2,83 ⁺⁰³	2,09 ⁻⁰⁴
10	1,24 ⁺⁰⁷	0,00 ⁺⁰⁰	0,00 ⁺⁰⁰
30	1,50 ⁺⁰⁷	5,33 ⁺⁰³	3,54 ⁻⁰⁴
60	1,54 ⁺⁰⁷	9,74 ⁺⁰²	6,31 ⁻⁰⁵
120	1,35 ⁺⁰⁷	2,83 ⁺⁰³	2,09 ⁻⁰⁴

Nas figuras 26 e 27 observa-se a formação o consumo do eugenol com a ZSM-5 com e sem troca iônica no decorrer da reação sob a temperatura de 90°C, nos tempos de 150 min. e 180 min., com esse resultado a zeólita ZSM-5 sem troca iônica teve a atividade.

Figura 26: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120min. e 150min.

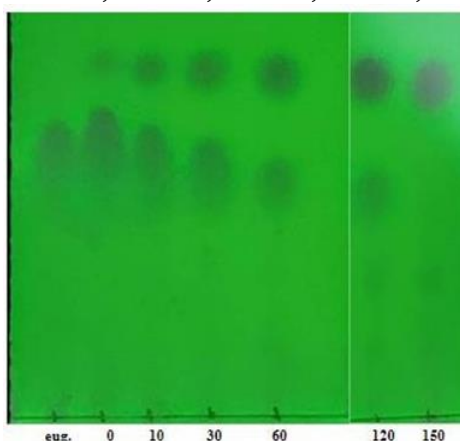
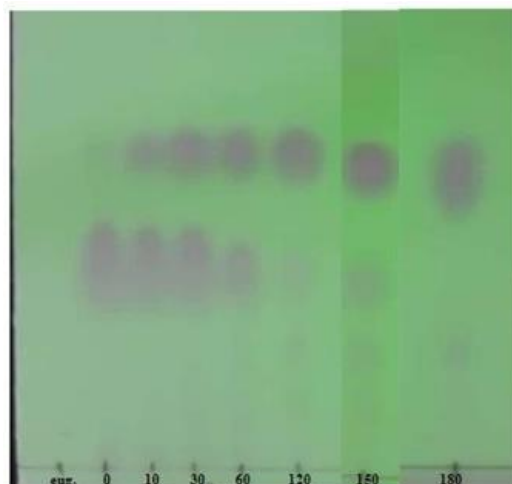


Figura 27: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a ZSM-5 com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120min, 150min. e 180 min.



Os dados de CLAE-EM para área dos picos apresentados pelos cromatogramas referente ao processo da reação com a ZSM-5 e ZSM-5TI estão apresentados nas tabelas 9 e 10, ambos os catalisadores consumiram o eugenol no tempo de 120 min. Pelo valor do fator de relação AAE e $AEUG$ observa-se que a ZSM-5TI apresentou uma melhor atividade, nesse caso, isso pode ter acontecido devido a ZSM-5 possui centros ativos podendo ser ácidos ativos de Lewis ou de Brønsted (VALIZADEH, 2022), mesmo com a troca iônica com o potássio o material ainda vai disponibilizar de sítios ácidos de Brønsted mais fortes, que colabora com a interação e promover a reatividade de formação de formação do AE.

Tabela 9: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol ($AEUG$), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5.

Amostra / Tempo (min.)	$AEUG$	AAE	FATOR
0	$1,85^{+07}$	$1,41^{+07}$	$7,64^{-01}$
10	$9,42^{+06}$	$2,69^{+07}$	$2,85^{+00}$
30	$6,94^{+06}$	$3,11^{+07}$	$4,49^{+00}$
60	$6,44^{+06}$	$4,11^{+07}$	$6,38^{+00}$
120		$4,39^{+07}$	

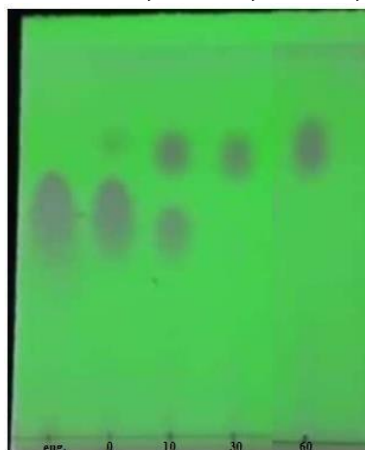
Tabela 10: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com ZSM-5 TI.

Amostra / Tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	1,17 ⁺⁰⁷	1,46 ⁺⁰⁷	1,24 ⁺⁰⁰
10	1,33 ⁺⁰⁷	2,03 ⁺⁰⁷	1,52 ⁺⁰⁰
30	2,85 ⁺⁰⁶	2,66 ⁺⁰⁷	9,33 ⁺⁰⁰
60	2,61 ⁺⁰⁶	2,83 ⁺⁰⁷	1,08 ⁺⁰¹
120		3,70 ⁺⁰⁶	

Observa-se um tempo maior da reação com a troca iônica, isso acontece por se tratar de um material menos ácido, uma vez que, a esterificação acontece em meio ácido. Além disso, porosidade dos catalisadores também está relacionada ao rendimento do produto, uma vez que, ocorrerá a transferência de eugenol e o anidrido acético da fase líquida para os sítios ativos do catalisador, por se tratar de uma reação sólido-líquido.

As propriedades texturais dos catalisadores, como área superficial elevada, dimensão dos poros, desenvolvem um papel significativo na difusão de moléculas volumosas, tanto do eugenol quanto do éster de eugenol, na superfície do catalisador (OLIVEIRA et al., 2019). Quando comparado com a Zeólita Beta, a ZSM-5 apresenta propriedades inferiores, o que pode influenciar no desempenho desses catalisadores (Figura 28).

Figura 28: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., e 60 min.



Os dados apresentados pela análise da CLAE-EM para a reação com a Beta (Tabela 11), mostrando que com 60 minutos, ainda tinha vestígios de eugenol, diferente do que foi observado para a análise com CCD, em que com 30 minutos não havia eugenol. Isso pode estar associado ao fato de que o CCD é uma análise qualitativa, sendo menos preciso do que o CLAE-EM. Apesar disso devido as propriedades da Beta os valores da área do AAE continuam sendo superiores ao da ZSM-5.

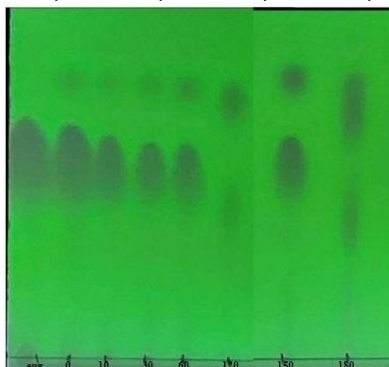
Tabela 11: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta.

Amostra / Tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	2,22 ⁺⁰⁶	4,61 ⁺⁰⁶	2,07 ⁻⁰¹
10	4,70 ⁺⁰⁶	3,52 ⁺⁰⁶	7,51 ⁺⁰⁰
30	3,33 ⁺⁰⁶	3,62 ⁺⁰⁷	1,09 ⁺⁰¹
60	2,36 ⁺⁰⁶	4,21 ⁺⁰⁷	1,79 ⁺⁰¹

Em uma reação de esterificação, o aumento da conversão do éster se deve ao prolongamento do tempo de contato entre o substrato e o catalisador, o que aumenta a transferência de massa e conseqüentemente leva a maiores conversões (OLIVEIRA et al., 2019). De acordo com a literatura, o UCat-5 (YADAV e YADAV, 2012) apresenta conversões consideravelmente altas, em que, foi usado o tempo de 230min. e temperatura de 110°C.

Em contrapartida os resultados para a zeólita Beta com troca iônica (Figura 29) mostram que o fenol não foi completamente consumido em menos de 180 min., esse fator se deve ao fato do catalisador está menos ácido do que a Beta sem troca iônica.

Figura 29: Placas de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a Beta com troca iônica, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 120 min, 150 min e 180min.



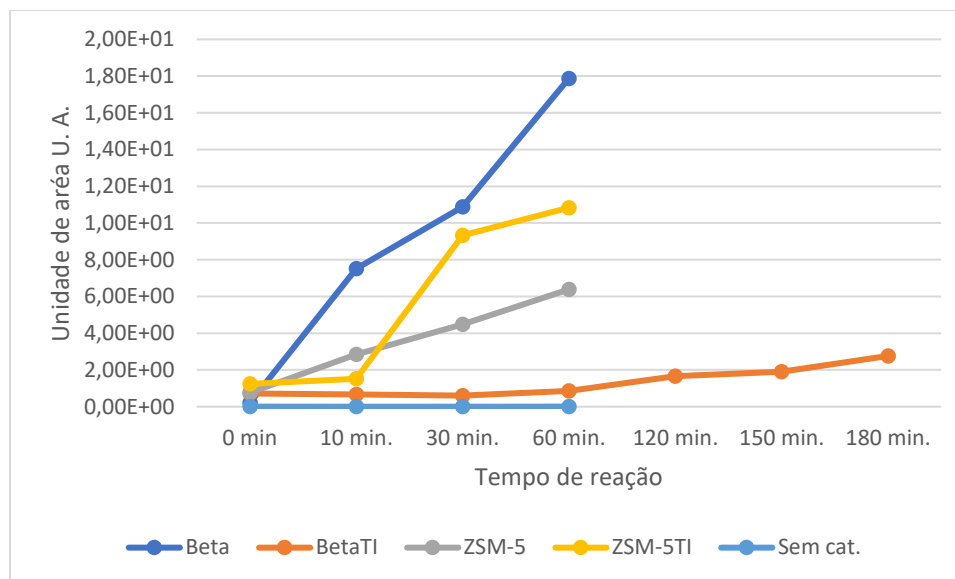
A reação com a Beta TI apresentou uma baixa atividade catalítica nos dados da CLAE-EM (Tabelas 12) os resultados confirmam que com 180 min. não houve o consumo completo do fenol, isso mostra que, apesar da estrutura Beta possui grandes porosos, a baixa acidez do catalisador influenciou para um fator de relação baixo.

Tabela 12: Dados obtidos pela análise da CLAE-EM para área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE da reação com a Beta TI.

Amostra / Tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	7,20 ⁺⁰⁶	5,12 ⁺⁰⁶	7,10 ⁻⁰¹
10	1,52 ⁺⁰⁷	1,02 ⁺⁰⁷	6,72 ⁻⁰¹
30	1,52 ⁺⁰⁷	9,18 ⁺⁰⁶	6,04 ⁻⁰¹
60	1,58 ⁺⁰⁷	1,35 ⁺⁰⁷	8,57 ⁻⁰¹
120	1,20 ⁺⁰⁷	2,01 ⁺⁰⁷	1,67 ⁺⁰⁰
150	1,09 ⁺⁰⁷	2,08 ⁺⁰⁷	1,91 ⁺⁰⁰
180	7,85 ⁺⁰⁶	2,17 ⁺⁰⁷	2,76 ⁺⁰⁰

O gráfico da Figura 30 apresenta todos os fatores de relação da área entre o eugenol e acetato de eugenila, através da comparação desses dados é possível observar que assim como a reação do eugenol em excesso, todos os catalisadores testados apresentaram atividade para a formação do AE. Dentre os materiais testados a Beta apresentou o fator em relação maior em comparação com os demais materiais testados, diferente da BetaTI que teve o menor desempenho, além de não consumir o eugenol completamente em menos de 180 minutos. Para a ZSM-5 observou-se que o material que passou pela troca iônica obteve um fator mais elevado em comparação com o catalisador puro, entretanto ambas tiveram o mesmo tempo de reação sendo 120 min. para o consumo total do eugenol. Todos os cromatogramas das reações em que o eugenol é o limitante encontram-se no Apêndice B.

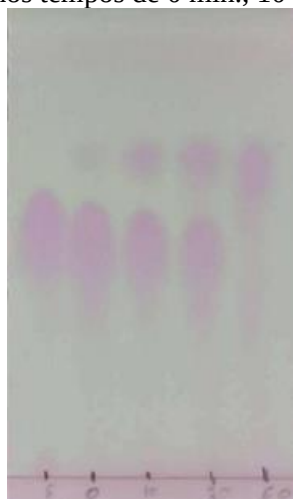
Figura 30: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenia/eugenol, para as reações com catalisador heterogêneo



5.1.3 Reutilização da Zéolita Beta

A capacidade de reutilização do catalisador zeólita Beta foi avaliada realizando três ciclos sucessivos de esterificação de eugenol (limitante) e anidrido acetico até a redução da sua atividade. Nesse sentido, obsevou-se um aumento de 30 minutos para a primeira reutilização (Figura 31).

Figura 31: placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a primeira reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., e 60 min.



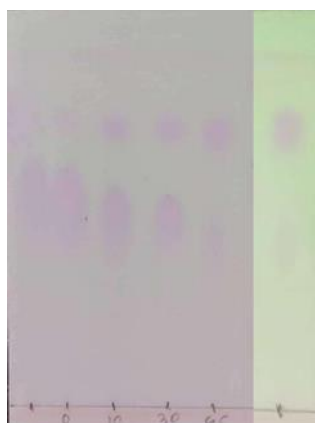
Os dados apresentados pela análise da CLAE-EM (Tabela 13), confirmam atividade do catalisador, além disso, com o fator de relação é possível constar o seu aumento no decorrer da reação, ou seja, há uma elevada formação do produto, até o tempo de 60 minutos.

Tabela 13: área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE para

o primeiro ciclo			
Amostra/tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	1,87 ⁺⁰⁷	1,77 ⁺⁰⁷	9,48 ⁻⁰¹
10	1,41 ⁺⁰⁷	1,45 ⁺⁰⁷	1,03 ⁺⁰⁰
30	1,77 ⁺⁰⁷	2,18 ⁺⁰⁷	1,23 ⁺⁰⁰
60	7,15 ⁺⁰⁶	1,88 ⁺⁰⁷	2,63 ⁺⁰⁰

Na segunda reutilização a reação com a zeólita Beta teve um aumento de mais 30 minutos em relação ao primeiro ciclo, mostrando uma pequena redução da sua atividade, apesar disso, através da análise em CCD observou-se que o catalisador foi ativo até o tempo de 90 minutos (Figura 32).

Figura 32: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a segunda reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min. e 90 min.



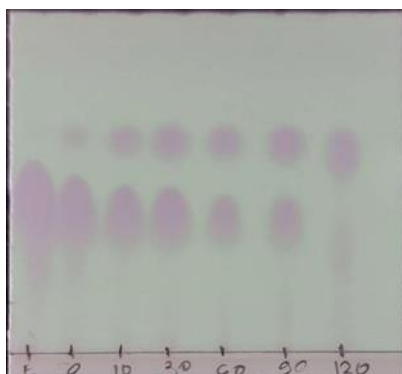
Com relação a área dos picos apresentados pelos cromatogramas do CLAE-EM referente ao processo da reação (Tabela 14), foi possível confirmar a formação do produto, mesmo após a segunda reutilização do catalisador.

Tabela 14: área do eugenol (AEUG), área do eugenol (AAE) e fator de relação entre o EUG e AE para o segundo ciclo

Amostra/ tempo (min.)	A _{EUG}	A _{AE}	FATOR
0	1,36 ⁺⁰⁷	6,50 ⁺⁰⁶	4,79 ⁻⁰¹
10	1,56 ⁺⁰⁷	1,78 ⁺⁰⁷	1,14 ⁺⁰⁰
30	8,87 ⁺⁰⁶	2,11 ⁺⁰⁷	2,38 ⁺⁰⁰
90	7,37 ⁺⁰⁶	3,02 ⁺⁰⁷	4,10 ⁺⁰⁰

O terceiro ciclo da reação com a zeólita Beta teve mais um aumento de 30 minutos relacionado a reutilização anterior. Nesse sentido, o procedimento teve um total de 120 minutos até o consumo do eugenol (Figura 33).

Figura 33: Placa de CCD com spots do eugenol (eug) e da reação do acetato de eugenila com a 3ª reutilização da Beta, nos tempos de 0 min., 10 min., 30 min., 60 min., 90 min. e 120 min.



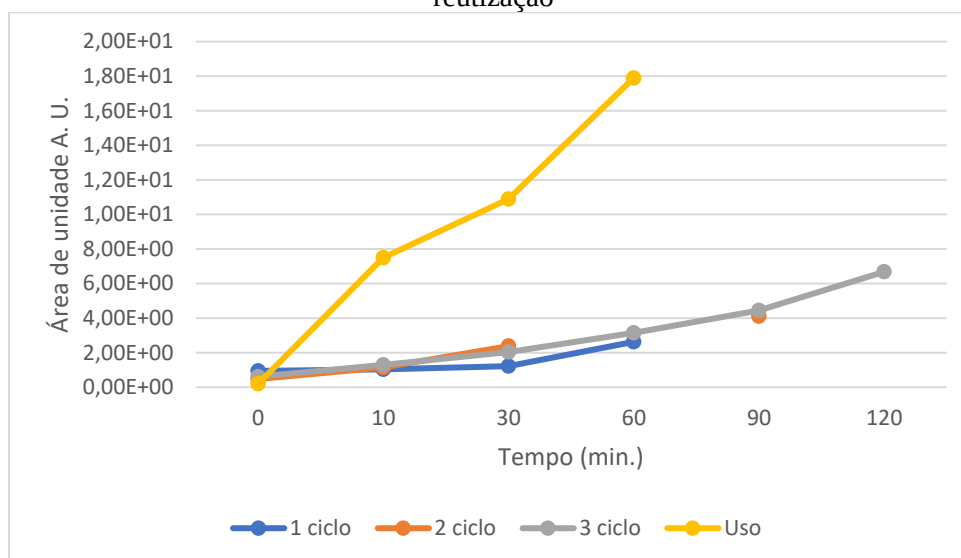
Os dados referentes aos cromatogramas da análise em CLAE-EM, confirmam a atividade da zeólita Beta para a sua terceira reutilização. Na tabela 15 é possível observar o aumento do fator de relação e a diminuição da área eugenol, ou seja, com o passar do tempo o eugenol foi sendo consumido para formar o acetato de eugenila, indicando que o catalisador ainda estava ativo após três reutilizações.

Tabela 15: área do eugenol (A_{EUG}), área do eugenol (A_{AE}) e fator de relação entre o EUG e AE

Amostra/ tempo (min.)	A_{EUG}	A_{AE}	FATOR
0	$1,97^{+07}$	$1,22^{+07}$	$6,19^{-01}$
10	$9,07^{+06}$	$1,18^{+07}$	$1,30^{+00}$
30	$8,63^{+06}$	$1,76^{+07}$	$2,04^{+00}$
60	$6,70^{+06}$	$2,11^{+07}$	$3,14^{+00}$
90	$5,93^{+06}$	$2,64^{+07}$	$4,45^{+00}$
120	$5,51^{+06}$	$3,68^{+07}$	$6,68^{+00}$

O gráfico da Figura 34 apresenta os fatores de relação da área entre o eugenol e acetato de eugenila, para o primeiro uso da zeólita Beta e os três ciclos de reutilização. Desta forma, observa-se que houve uma estabilidade nos ciclos, em que, o fator de relação entre cada reuso teve valores próximos, revelando ainda um aumento no decorrer do tempo da reação.

Figura 34: Gráfico do fator de relação das áreas acetato de eugenila/eugenol, para as reações de reutilização



Portanto, zeólita Beta mostrou atividade após três ciclos consecutivos, apesar do tempo de reação aumentar, esse catalisador pode ser considerado ativo para a esterificação do eugenol e reutilizável para desse processo.

5.2 TESTE BIOLÓGICO

5.3.1 Toxicidade aguda 96 h

O zebrafish adulto é um modelo animal cada vez mais utilizado em estudos de toxicidade devido a uma série de fatores que tornam essa espécie uma escolha vantajosa em relação a outros modelos animais (Ferreira *et al.*, 2021). Primeiramente, o zebrafish adulto é um organismo vertebrado, o que significa que tem muitas semelhanças biológicas com os seres humanos, incluindo a presença de um sistema nervoso central, sistema cardiovascular e sistema imunológico semelhantes. Além disso, a transparência da larva de zebrafish permite a observação direta dos efeitos tóxicos em órgãos e tecidos em tempo real, o que é uma grande vantagem em relação a outros modelos animais (Silva *et al.*, 2020). Outra vantagem é a capacidade de manipular geneticamente esses animais, permitindo a realização de estudos sobre os efeitos de compostos tóxicos em vias específicas. Além disso, a pequena dimensão do zebrafish adulto permite a realização de testes de toxicidade em grandes escalas, o que é importante para a triagem de compostos tóxicos em larga escala.

Por todas essas razões, o zebrafish adulto é amplamente utilizado em estudos de toxicidade, tanto para avaliar os efeitos de substâncias químicas em organismos vivos quanto

para investigar as vias de sinalização molecular envolvidas na toxicidade (Silva *et al.*, 2020). Nesse contexto, utilizamos o zebrafish adulto como modelo animal para avaliar a toxicidade aguda das amostras.

Como resultado para as amostras EUG e AE, constatou-se que todas as doses utilizadas das amostras não foram tóxicas para zebrafish adulto até 96 h de análise ($DL_{50} > 40$ mg/kg), pois não houve morte dos animais em nenhuma das doses e nenhuma alteração anatômica aparente nos animais durante este período ($p > 0,05$).

5.3.2 Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)

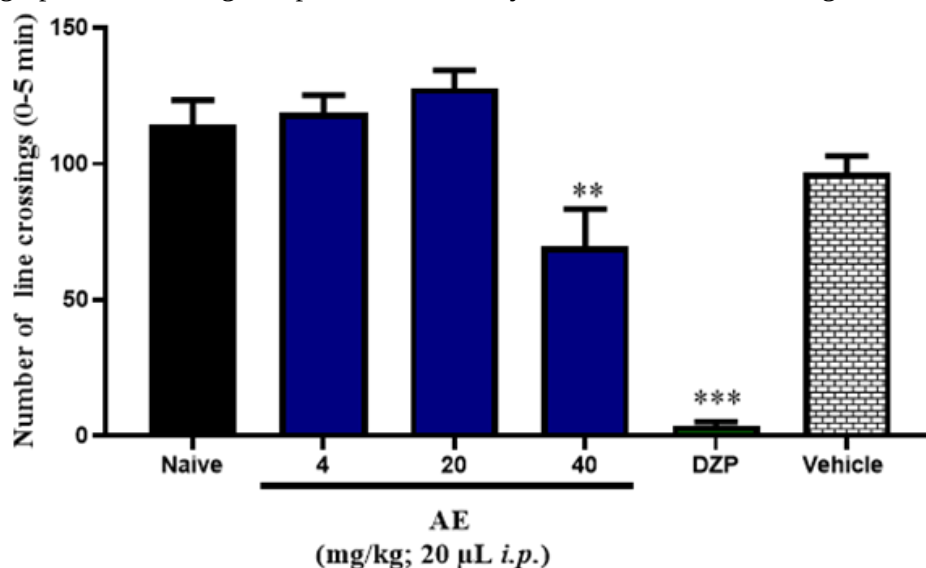
A análise da atividade locomotora pelo teste de campo aberto do peixe zebrafish é uma ferramenta comum utilizada em estudos comportamentais e farmacológicos. Isso ocorre porque o movimento e o comportamento de natação dos peixes zebrafish são altamente sensíveis a estímulos externos e internos, incluindo mudanças em seu ambiente físico, fatores emocionais e respostas farmacológicas (Gebauer *et al.*, 2011; Kurta e Palestis, 2010; Taylor *et al.*, 2017). Ao analisar a atividade locomotora pelo teste de campo aberto, é possível obter informações sobre o efeito de diferentes substâncias químicas no comportamento do peixe. Por exemplo, uma substância tóxica pode reduzir a atividade locomotora do zebrafish, enquanto uma substância que melhora a saúde geral do peixe pode aumentar sua atividade. Além disso, o teste de campo aberto também pode ser utilizado para avaliar o efeito de tratamentos farmacológicos em transtornos do comportamento, como ansiedade e depressão. Por exemplo, um composto que reduz a ansiedade em humanos pode aumentar a atividade locomotora do zebrafish em um teste de campo aberto, indicando um potencial efeito ansiolítico (Gebauer *et al.*, 2011).

Dessa forma, a análise da atividade locomotora pelo teste de campo aberto pode fornecer informações valiosas sobre o efeito de diferentes substâncias e condições no comportamento do zebrafish, ajudando a entender melhor os mecanismos envolvidos na toxicidade e em transtornos do comportamento.

Recentemente, o teste de campo aberto foi adaptado em placas de Petri, proposto por Ahmad e Richardson (2013), para avaliar atividade locomotora de zebrafish adulto sob ação de drogas analgésicas (Magalhães *et al.*, 2017).

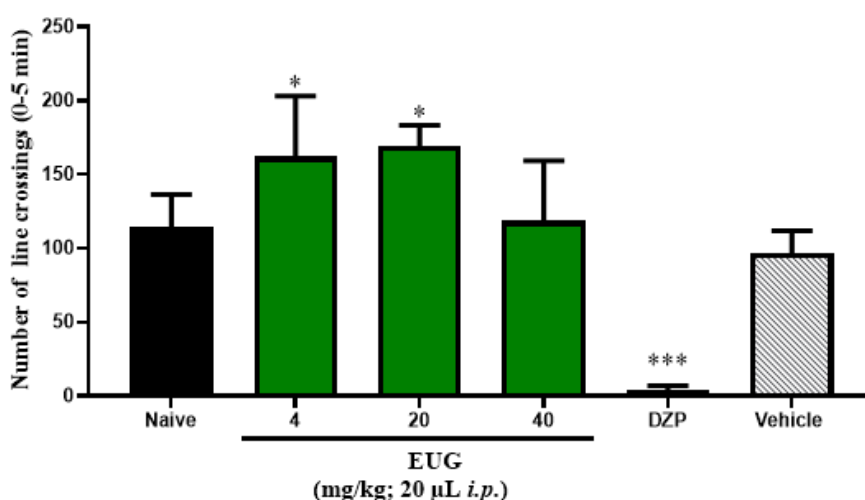
Como resultados, observou-se que a maior dose da amostra AE [$** p < 0,01$ (40 mg/kg e Diazepam [$*** p < 0,001$ (4 mg/kg)], causaram comprometimento motor no ZFa, pois os animais tiveram a atividade locomotora significativamente reduzida quando comparados com os grupos controle (veículo – DMSO a 3 %), diferentemente das menores concentrações de 4 e 20 mg/kg da amostra que não causou comprometimento motor nos animais (Figura 35).

Figura 35: Efeito da amostra sob o comportamento locomotor do peixe-zebra adulto no Teste de Campo Aberto (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os asteriscos indicam significância



Observou-se que as duas menores doses da amostra EUG (* $p < 0,05$ (4 e 20 mg/kg) e Diazepam [*** $p < 0,001$ (4 mg/kg), causaram comprometimento motor no ZFa, pois os animais tiveram a atividade locomotora significativamente reduzida quando comparados com os grupos controle (veículo – DMSO a 3 %), diferentemente da concentração de 40 mg/kg da amostra que não causou comprometimento motor nos animais (Figura 36).

Figura 36: Efeito da amostra sob o comportamento locomotor do peixe-zebra adulto no Teste de Campo Aberto (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os asteriscos indicam significância.

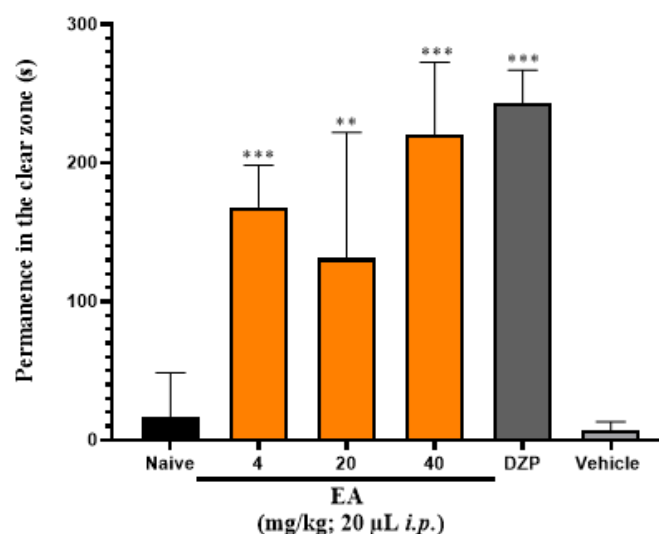


5.3.3 Avaliação Ansiolítica

O teste claro/escuro em zebrafish adulto é um teste comportamental que avalia a atividade ansiolítica ou ansiogênica de compostos químicos. Nesse teste, o peixe é colocado em um aquário dividido em duas partes, uma iluminada e outra escura. O zebrafish é um animal naturalmente fótico e prefere áreas escuras e menos iluminadas. Portanto, quando colocados em uma câmara com áreas clara e escura, os peixes normalmente passam a maior parte do tempo na área escura. No entanto, quando tratados com compostos ansiolíticos, os peixes tendem a passar mais tempo na área clara, indicando uma redução nos comportamentos ansiosos e um aumento na atividade exploratória. A análise da atividade ansiolítica pelo teste claro/escuro em zebrafish adulto é útil em estudos farmacológicos, onde o objetivo é identificar compostos com potencial ansiolítico (Aimêe *et al.*, 2021).

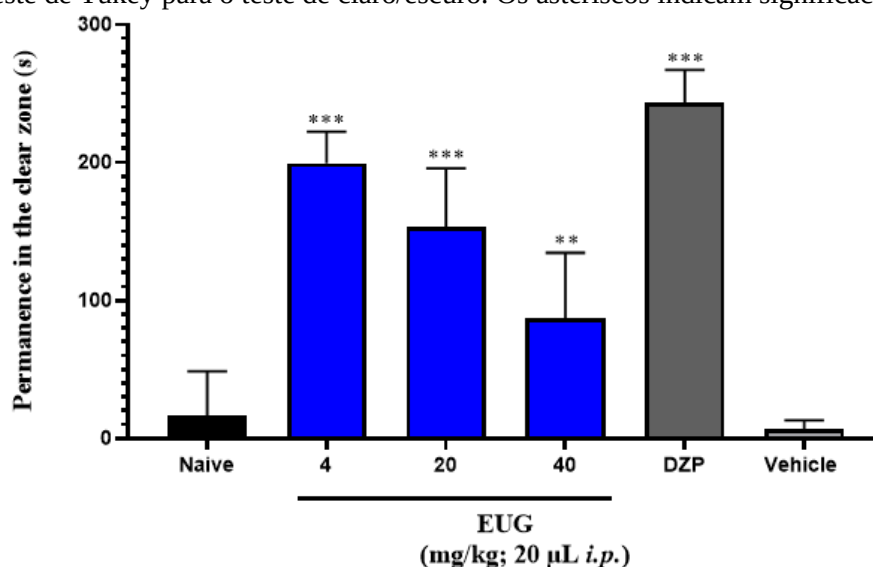
Além disso, este teste também é útil em estudos de toxicidade, pois a exposição a compostos tóxicos pode afetar negativamente o comportamento de um peixe zebrafish, levando a um aumento dos comportamentos ansiosos ou de esquiva. Portanto, a análise da atividade ansiolítica pelo teste claro/escuro em zebrafish adulto pode ajudar a identificar compostos tóxicos que afetam negativamente o comportamento de um organismo, fornecendo informações importantes para avaliar o risco potencial desses compostos para a saúde humana e ambiental. Os resultados do teste do claro da amostra AE demonstrou que todas as concentrações induziram um aumento da permanência dos animais na zona clara do aquário ($***p < 0,001$ e $**p < 0,1$ vs naive) (Figura 37). Os resultados são significativamente semelhantes ao controle Dzp positivo e significativamente diferentes em comparação aos controles (naive e veículo). Dessa forma, os resultados demonstram que a amostra apresenta potencial para ser usada no desenvolvimento de compostos com propriedades ansiolíticas.

Figura 37: Efeito da AE na ansiedade do Zebrafish no teste claro/escuro (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para o teste de claro/escuro. Os asteriscos indicam significância.



A amostra EUG em todas as concentrações aumentou (** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ vs naive) o tempo dos animais na região clara do aquário no teste claro/escuro (Figura 37), demonstrando efeito ansiolítico semelhante ao Diazepam (DZP; 4 mg/kg), controle positivo. Os resultados demonstram que a amostra apresenta potencial para ser usada no desenvolvimento de compostos com propriedades ansiolíticas.

Figura 38: Efeito da EUG na ansiedade do Zebrafish no teste claro/escuro (0–5 min). Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média para 6 animais/grupo; One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para o teste de claro/escuro. Os asteriscos indicam significância.



6 CONCLUSÃO

As sínteses das Zeólitas Beta e ZSM-5 foram eficientes, sendo comprovadas pelas suas propriedades físico-químicas, tais como, estrutura, propriedades texturais e composição química. Foi possível realizar a síntese do derivado do eugenol, sem o uso de solvente, utilizando as Zeólitas como catalisador, abordando uma modificação estrutural no grupo hidróxi (^-OH) da molécula, formando o acetato de eugenila.

O método usado no trabalho possui características significativas, como a simplicidade do procedimento, tempo de reação curto e processo de reação menos nocivo. Além disso, o estudo mostrou que o acetato de eugenila causou comportamento ansiolítico no Zebrafish. Essas novas evidências farmacológicas abrem horizontes para abordagens terapêuticas a serem investigadas.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. DA S. *et al.* Chemical and Biological Aspects of the Essential Oil of Indian Cloves. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, 2012.
- AMANI, S. *et al.* Application of diffuse reflectance near-infrared spectrometry and chemometrics in characterization of micro and mesoporous ZSM-5 zeolites. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 8, n. 61, p. 34830-34837, 2018.
- API, A. M. *et al.* RIFM fragrance ingredient safety assessment, eugenyl acetate, CAS Registry Number 93-28-7. **Food And Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 144, p. 111630, 2020.
- ARRUDA, T. R. *et al.* Natural bioactives in perspective: the future of active packaging based on essential oils and plant extracts themselves and those complexed by cyclodextrins. **Food Research International**, [S.L.], v. 156, p. 111160, 2022.
- BEGUM, S. N.; RAY, A. S.; RAHAMAN, C. H. A comprehensive and systematic review on potential anticancer activities of eugenol: from pre-clinical evidence to molecular mechanisms of action. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 107, p. 154456, 2022.
- BERNARDO-GUSMÃO, *et al.* Um panorama da Catálise no Brasil nos últimos 40anos. **Química Nova**, [S.L.], v. 40, n. 6, p. 650-655, 2017.
- BRAGA, A. A. C.; MORGON, N. H. Descrições estruturais cristalinas de zeólitos. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 178-188, 2007.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 60, n. 2, p. 309-319, 1938.
- CALDEIRA, V. P. da S. Avaliação da síntese e caracterização de zeólita ZSM-5 ausente de direcionador orgânico-estrutural. 2011. 90 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.
- CALDEIRA, V. P. da S. Síntese e caracterização de zeólita beta hierarquizada e materiais híbridos micro-mesoporosos aplicados no craqueamento de PEAD. 2013. 145 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.
- CALDEIRA, V. P. da S., *et al.* Use of a low-cost template-free ZSM-5 for atmospheric petroleum residue pyrolysis. **Química Nova**, v. 39, n. 3, 292-297, 2016.
- CALDEIRA, V. P. S. *et al.* Properties of hierarchical Beta zeolites prepared from protozeolitic nanounits for the catalytic cracking of high density polyethylene. **Applied Catalysis A: General**, [S.L.], v. 531, p. 187-196, 2017.
- CALVALCANTE, P. M. M. *et al.* Proposta de preparação e caracterização de ésteres: um experimento de análise orgânica na graduação. **Educación Química**, [S.L.], v. 26, n. 4, p.319-329, out. 2015.
- CAMBLOR, M. A., *et al.* Synthesis of nanocrystalline zeolite beta in the absence of alkali metal cations. **Stud. Surf. Sci. Catal** v.105, p. 341-348, 1997.

CARDOSO, T. S. *et al.* Uma revisão da utilização de catalisadores heterogêneos para a produção de biodiesel. **Brazilian Applied Science Review**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 240-276, 2020.

CHAVES, T. F. *et al.* As-synthesized TEA-BEA zeolite: effect of Si/Al ratio on the knoevenagel condensation. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 202, p. 198-207, 2015.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **ORGANIC CHEMISTRY. 2.** ed. New York: Oxford University Press, 2012. 1265 p.

DEFRANCESCO, J. V. Extraction and Analysis of Eugenol from Cloves. **Journal Of Forensic Science Education**, Chicago, v. 3, n. 1, p. 1-2, maio 2021.

EKTEFA, F.; DARIAN, J. T.; SOLTANALI, S. Performance of BEA, FAU, LTL, MFI, and MOR zeolites in the removal of ethyl mercaptan traces from natural gas by Monte Carlo molecular simulation. **Applied Surface Science**, [S.L.], v. 605, p. 154833, 2022.

FAN, X. *et al.*, W. Preparation, surface acidity and catalytic performance of Beta/ZSM-5 composite molecular sieve. **Chemical Physics**, [S.L.], v. 558, p. 111512, 2022.

FAWAZ, E. G. *et al.* Esterification of linoleic acid using HZSM-5 zeolites with different Si/Al ratios. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 294, p. 109855, 2020.

FERNANDES, M. J. G. *et al.* New Eugenol Derivatives with Enhanced Insecticidal Activity. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 23, p. 9257, 2020.

FERREIRA, M. K. A., da SILVA, A. W., dos SANTOS MOURA, A. L., SALES, K. V. B., MARINHO, E. M., CARDOSO, J. N. M., MARINHO, M. M., BANDEIRA, P. N., MAGALHÃES, F. E. A., MARINHO, E. S., DE MENEZES, J. E. S. A., & dos SANTOS, H. S. Chalcones reverse the anxiety and convulsive behavior of adult zebrafish. **Epilepsy Behav**, 117, p.107881. 2021.

GAZOLLA, P. *et al.* Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. **Química Nova**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 497-506, 2018.

GEBAUER, D. L., PAGNUSSAT, N., PIATO, Â. L., SCHAEFER, I. C., BONAN, C. D., & LARA, D. R. Effects of anxiolytics in zebrafish: Similarities and differences between benzodiazepines, buspirone and ethanol. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 3, n. 99, p. 480–486. 2011.

GENGATHARAN, A.; RAHIM, M. H. A. The Application of Cloves as a Potential Functional Component in Active Food Packaging Material and Model Food System: a mini-review. **Applied Food Research**, [S.L.], p. 100283, 2023.

GONÇALVES, N. G. G., DE ARAÚJO, J. I. F., MAGALHÃES, F. E. A., MENDES, F. R. S., LOBO, M. D. P., MOREIRA, A. C. DE O. M., e MOREIRA, R. de A. Protein fraction from *Artocarpus altilis* pulp exhibits antioxidant properties and reverses anxiety behavior in adult zebrafish via the serotonergic system. **Journal of Functional Foods**, 2020,

HADI, I. M. et al. Performance Characteristics of Clove Oil, Eugenol and Eugenyl Acetate as Bio-Additives in a Single Cylinder Diesel Engine. **Saudi Journal of Engineering and Technology Abbreviated Key Title: Saudi J Eng Technol**, v. 6, n. 8, p. 2415–6264, 2021.

HE, Ruipeng *et al.* Effectiveness of eugenol as an anesthetic for adult spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). **Aquaculture**, [S.L.], v. 523, p. 735180, 2020.

KAUR, K.; KAUSHAL, S.; RANI, R. Chemical Composition, Antioxidant and Antifungal Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil, its Major Compound and its Derivatives. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 22, n. 5, p. 1195–1217, 3 set. 2019.

KHAN, N. R. *et al.* Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: a review. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 50, n. 11, p. 1793-1806, 2015.

KHAN, Z. *et al.* Current developments in esterification reaction: a review on process and parameters. **Journal Of Industrial and Engineering Chemistry**, [S.L.], v. 103, p. 80-101, 2021.

KEROSENEWALA, J. *et al.* Eugenol: extraction, properties and its applications on incorporation with polymers and resins: a review. **Polymer Bulletin**, [S.L.], 2022.

KERAMAT, M. *et al.* jfppA comparison of antioxidant activities by eugenyl acetate and eugenyl butyrate at frying temperature. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.45, n. 4, 1 abr. 2021.

LAROQUE, D. *et al.* Synthesis of Eugenyl Acetate in Solvent-Free Acetylation: process optimization and kinetic evaluation. **Journal Of Chemical Engineering & Process Technology**, [S.L.], v. 06, n. 04, 2015.

LAZAREVIĆ, J. et al. Synthesis, antimicrobial activity and in silico studies on eugenol eters. **Acta Chimica Slovenica**, v. 65, n. 4, p. 801–810, 2018.

LIMA, R. B. *et al.* Obtainment of hierarchical ZSM-5 zeolites by alkaline treatment for the polyethylene catalytic cracking. **Advanced Powder Technology**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 515-523, 2021.

LIU, Y. Integrative network pharmacology and in silico analyses identify the anti-omicron SARS-CoV-2 potential of eugenol. **Heliyon**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 13853, 2023.

MA, Y., *et al.* Synthesis of CuCe co-modified mesoporous ZSM-5 zeolite for the selective catalytic reduction of NO by NH₃. **Environ Sci Pollut Res**, v. 27, p. 9935–9942, 2020.

MACHADO, J. R. *et al.* Synthesis of eugenyl acetate by immobilized lipase in a packed bed reactor and evaluation of its larvicidal activity. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 58, p. 114-119, 2017.

MASTERS, A. F.; MASCHMEYER, T. Zeolites – From curiosity to cornerstone. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 142, n. 2-3, p. 423-438, 2011.

- MAURYA, A. K. *et al.* Synthesis of eugenol derivatives and its anti-inflammatory activity against skin inflammation. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 251-260, 2018.
- MENEZES FILHO, A. C. P. de; CASTRO, C. F. de S. Análise Fitoquímica dos Extratos Etanólicos de *Euphorbia splendens* (Borjer ex. Hooke) e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 98, 2019.
- MIGNONI, M. L. *et al.* Estudo da síntese da zeólita ZSM-5 a partir de argilas naturais. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 45-48, 2007.
- MYA, O. B. *et al.* Esterification process catalyzed by ZSM-5 zeolite synthesized via modified hydrothermal method. **Methodsx**, [S.L.], v. 5, p. 277-282, 2018.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v.83, n. 3, p.770–803, 2020.
- OLEA, A. *et al.* Antifungal Activity of Eugenol Derivatives against *Botrytis Cinerea*. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 1239, 2019.
- OLIVEIRA, A. de N. de. Síntese e caracterização de materiais catalíticos a partir de caulim flint e estudo comparativo do desempenho catalítico na esterificação do eugenol. 2019. 129 f. Tese (**Doutorado**) - **Curso de Química**, Universidade Federal do Pará, Pará, 2019.
- OLIVEIRA, A. de N. de *et al.* Efficient esterification of eugenol using a microwave-activated waste kaolin. **Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis**, [S.L.], v. 130, n. 2, p. 633-653, 2020.
- OLIVEIRA, A. de N. de *et al.* Acetylation of Eugenol over 12-Molybdophosphoric Acid Anchored in Mesoporous Silicate Support Synthesized from Flint Kaolin. **Materials**, [S.L.], v. 12, n. 18, p. 2995, 16 set. 2019.
- PAIDI, Ramesh Kumar *et al.* Eugenol, a Component of Holy Basil (Tulsi) and Common Spice Clove, Inhibits the Interaction Between SARS-CoV-2 Spike S1 and ACE2 to Induce Therapeutic Responses. **Journal Of Neuroimmune Pharmacology**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 743-755, 2021.
- PARMAR, J. A. *et al.* Esterification of bioplatfrom molecule succinic acid using ZSM-5 and HZSM-5 catalysts. **Indian Chemical Engineer**, [S.L.], v. 63, p. 75-83, 2019.
- PERGHER, S. B. C. *et al.* Materiais magnéticos baseados em diferentes zeólitas para remoção de metais em água. **Química Nova**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 751-755, 2005.
- PONTES, Kesley A. O. *et al.* Eugenol disrupts *Plasmodium falciparum* intracellular development during the erythrocytic cycle and protects against cerebral malaria. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, [S.L.], v. 1865, n. 3, 2021.
- PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 738-744, out. 2003.

QIAN, W. *et al.* Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its effect on biofilms. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 139, p. 103924, 2020.

RAJ, C. K. V. *et al.* In-vitro anti-*Mycobacterium tuberculosis* effect of Eugenol. **Indian Journal Of Tuberculosis**, [S.L.], p. 1-2, 2021.

SANTOS, S.; PUNA, J.; GOMES, J. A Review on Bio-Based Catalysts (Immobilized Enzymes) Used for Biodiesel Production. **Energies**, [S.L.], v. 13, n. 11, p. 3013, 11 jun. 2020.

SARAPHANCHOTIWITTHAYA, A *et al.* Comparative anti-inflammatory activity of eugenol and eugenyl acetate on the murine immune response in vitro. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** V. 3 n. 41, p. 614-648, 2019.

SILVA A.W. da; FERREIRA M.K. A.; REBOUÇAS E.L.; SILVA C.O.; HOLANDA C.L.A.; BARROSO S.M.; REIS J.; BATISTA F.L.A.; MENDES R.S.; CAMPOS A.R.; EIRE J.; MENEZES S.A. de; ERNANI F.; MAGALHÃES A.; SIQUEIRA S.M.C. Anxiolytic-like effect of *Azadirachta indica* A . Juss . (*Neem* , *Meliaceae*) bark on adult zebrafish (*Danio rerio*): participation of the Serotonergic and GABAergic systems. **Pharm. Pharmacol. Int. J.**, 2020, v 8, pp. 256–263.

SILVA, F. F. M. da *et al.* Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities. **Chemistry Central Journal**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 2-9, 3 abr. 2018.

SAHIN, S. *et al.* Identification of eugenol as the major determinant of GABAA-receptor activation by aqueous *Syzygium aromaticum* L. (clove buds) extract. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 641–649, 1 out. 2017.

SHARMA, P. *et al.* The untapped potential of zeolites in techno-augmentation of the biomaterials and food industrial processing operations: a review. **Journal Of Future Foods**, [S.L.], v. 3, n. 2, p. 127-141, 2023.

SOUZA, P. G. CONCEITOS E ADOÇÃO DE QUÍMICA VERDE: uma revisão bibliográfica. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 248, 4 abr. 2019.

SURURI, A. M.; KARTIKA MAHARANI, D.; WATI, A. **POTENSI SENYAWA EUGENOL DARI CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI INHIBITOR PROTEASE HIV-1 (PR) POTENCY OF EUGENOL COMPOUNDS FROM CLOVE (*Syzygium aromaticum*) AS HIV-1 PROTEASE (PR) INHIBITORS** **SUNESA Journal of Chemistry**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

STURT, N. R.M. *et al.* Catalytic activity of sulfated niobium oxide for oleic acid esterification. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, [S.L.], v. 7, p. 102866, 2019.

THOMMES, M. *et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and applied chemistry**, v.87, n. 9-10, p.1051-1069. 2015.

TISCHER, J. S. *et al.* Synthesis of eugenyl acetate through heterogeneous catalysis. **Journal Of Essential Oil Research**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 312-318, 2019.

VALIZADEH, S. *et al.* Production of aromatics fuel additives from catalytic pyrolysis of cow manure over HZSM-5, HBeta, and HY zeolites. **Chemical Engineering Journal**, v. 450, p. 137971, 2022.

VANIN, A. B., *et al.* Atividades Antimicrobianas e Antioxidantes do Óleo Essencial de Cravo e Acetato de Eugenila Produzidos por Esterificação Enzimática. **Appl Biochem Biotechnol**, 1286–1298, 2014.

VERMA, M.; KAUR, G. A mini review on zeolite. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], p. 2214-7853, 2021.

VIEIRA, J. S.*et al.* Esterificação e transesterificação homogênea de óleos vegetais contendo alto teor de ácidos graxos livres. **Química Nova**, [S.L.], v. 01, n. 41, p. 10-16, jan. 2018.

WALTON, K. S.; ABNEY, Morgan B.; LEVAN, M. Douglas. CO₂ adsorption in Y and X zeolites modified by alkali metal cation exchange. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 91, n. 1-3, p. 78-84, abr. 2006.

XIE, Y. *et al.* Structure-activity relationships of cinnamaldehyde and eugenol derivatives against plant pathogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, [S.L.], v. 97, p. 388-394, 2017.

YADAV, G. D.; YADAV, A. R. Insight into esterification of eugenol to eugenol benzoate using a solid super acidic modified zirconia catalyst UDCaT-5. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 192, p. 146-155, 2012.

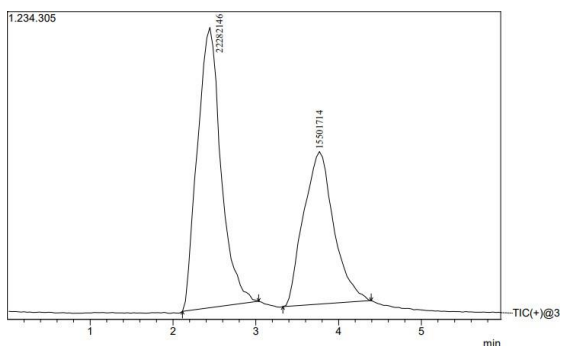
YUE, Y. *et al.* Pure-phase zeolite beta synthesized from natural aluminosilicate minerals and its catalytic application for esterification. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 126, 2016.

ZARE, M.; GOLMAKANI, M.-T.; SARDARIAN, Al. Green synthesis of banana flavor using different catalysts: a comparative study of different methods. **Green Chemistry Letters and Reviews**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 83-92, 2020.

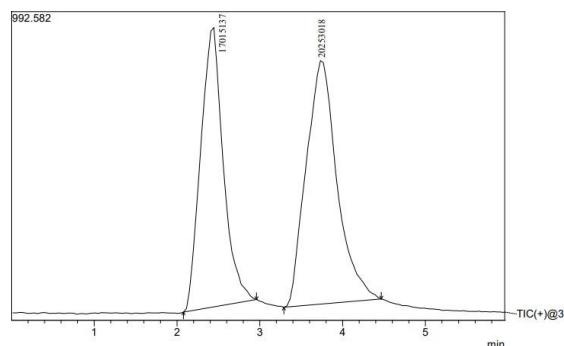
ZIJUN, Z. *et al.* Synthesis and cation exchange capacity of zeolite W from ultra-fine natural zeolite waste. **Environmental Technology & Innovation**, [S.L.], v. 23, p. 101595, 2021.

APÊNDICE A – CROMATOGRAFIA DAS REAÇÕES COM O EUGENOL EM EXCESSO

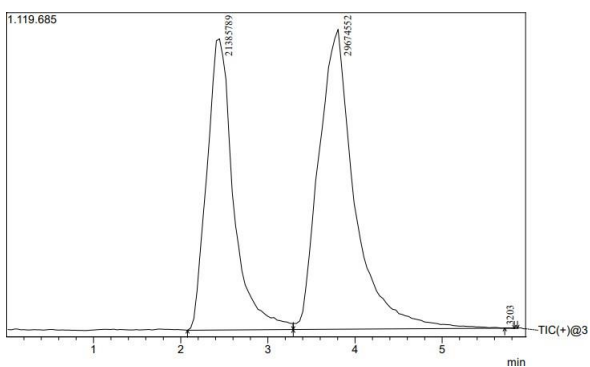
Reação sem catalisador tempo inicial



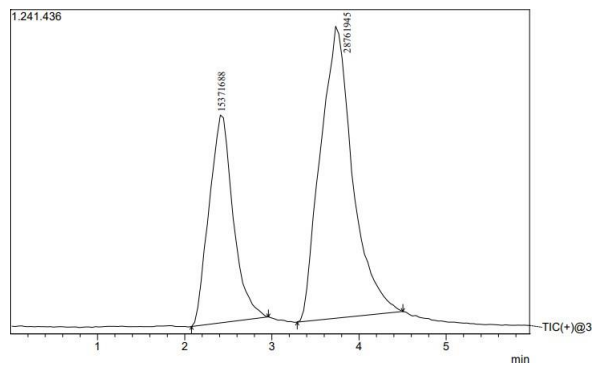
Reação sem catalisador tempo 10 min.



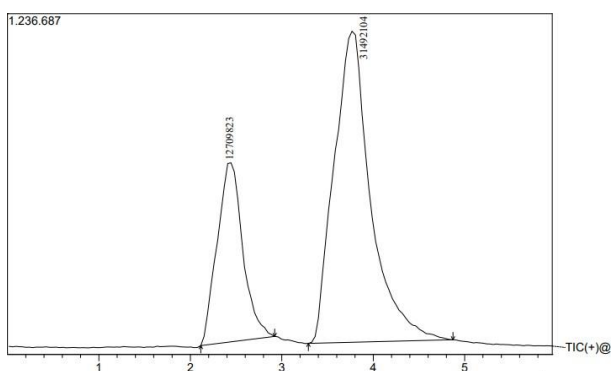
Reação sem catalisador tempo 30 min.



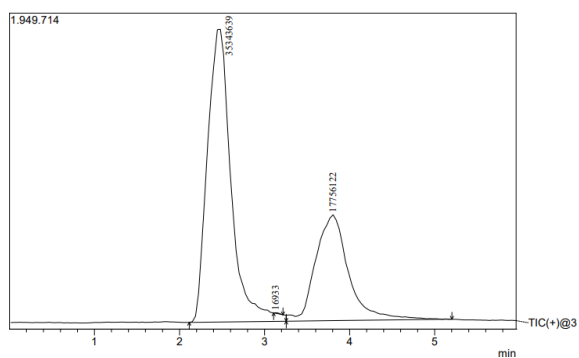
Reação sem catalisador tempo 60 min.



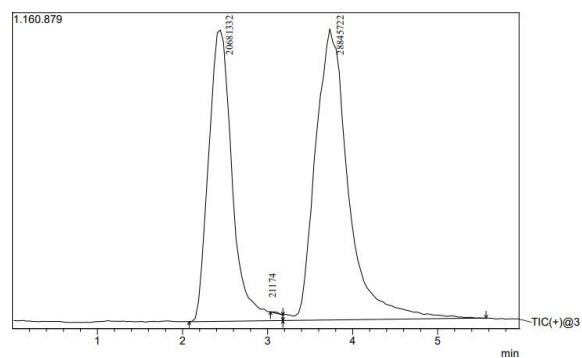
Reação sem catalisador tempo 120 min.



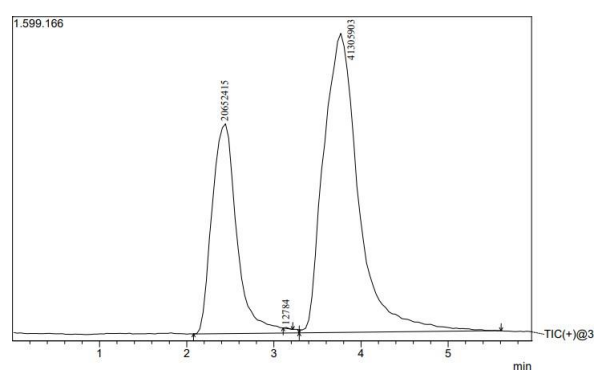
Reação ZSM-5 tempo inicial



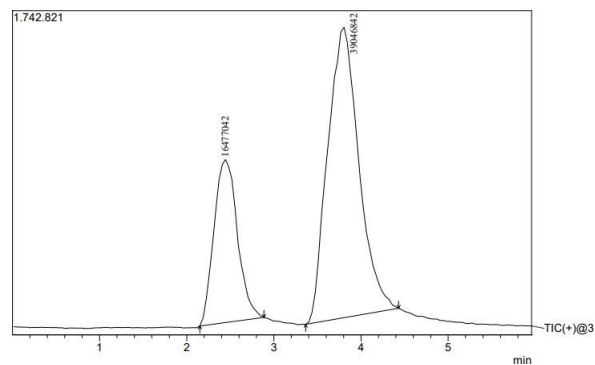
Reação ZSM-5 tempo 10 min.



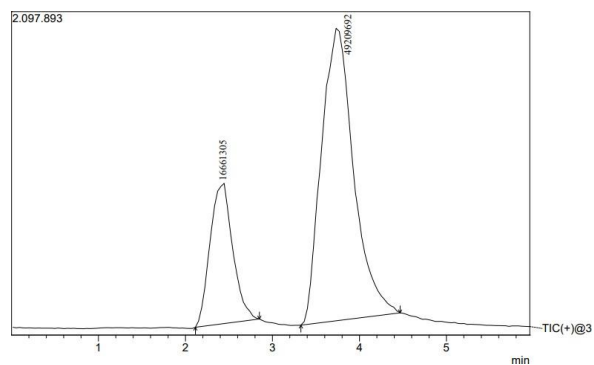
Reação ZSM-5 tempo 30 min.



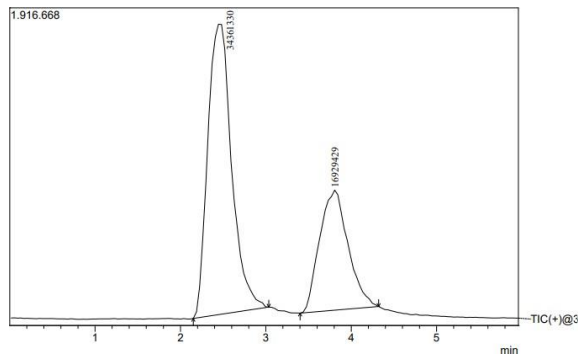
Reação ZSM-5 tempo 60 min.



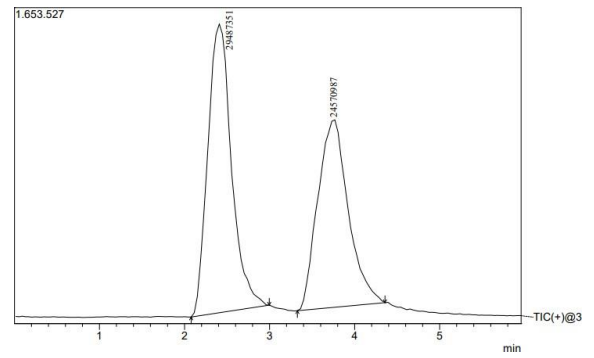
Reação ZSM-5 tempo 120 min.



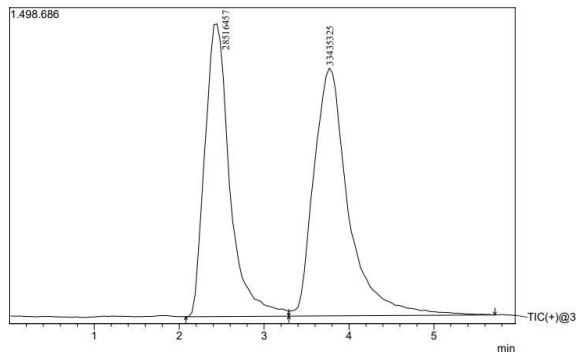
Reação ZSM-5 T. I. tempo inicial



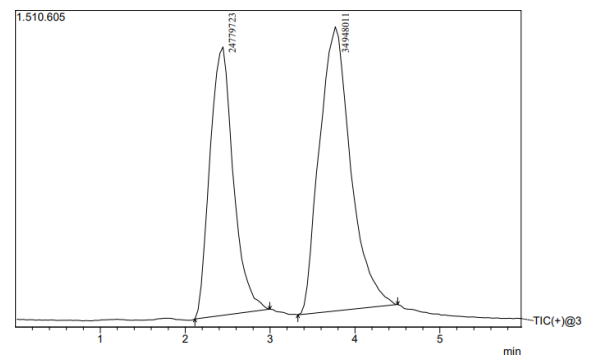
Reação ZSM-5 tempo T. I. 10 min.



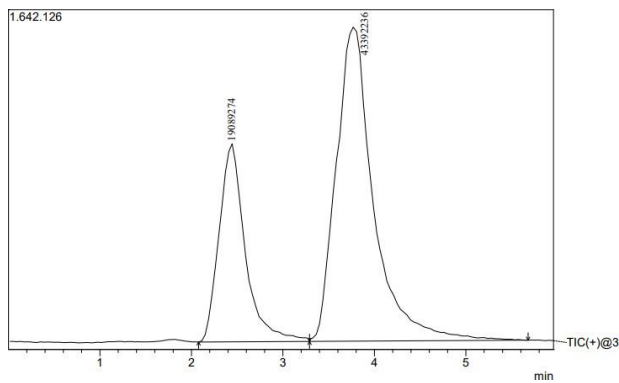
Reação ZSM-5 T. I. tempo 30 min.



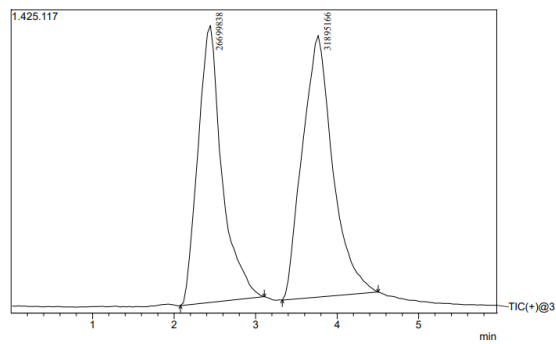
Reação ZSM-5 T. I. tempo 60 min.



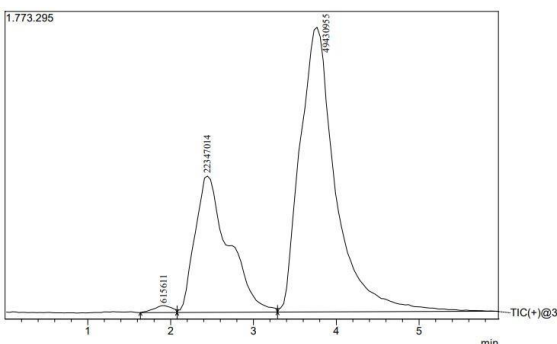
Reação ZSM-5 T. I. tempo 120 min.



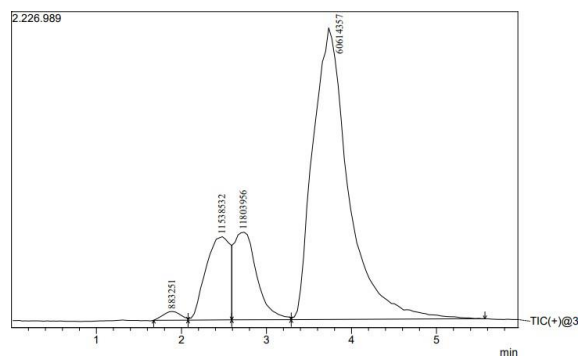
Reação Beta tempo inicial



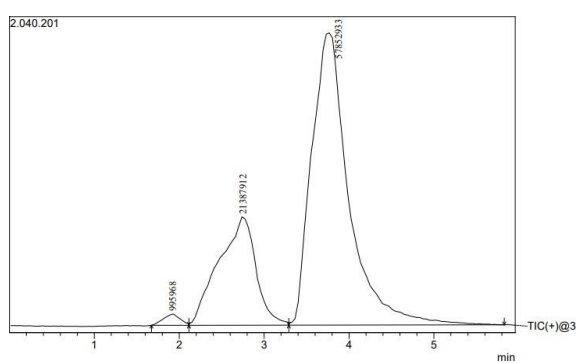
Reação Beta tempo 10 min.



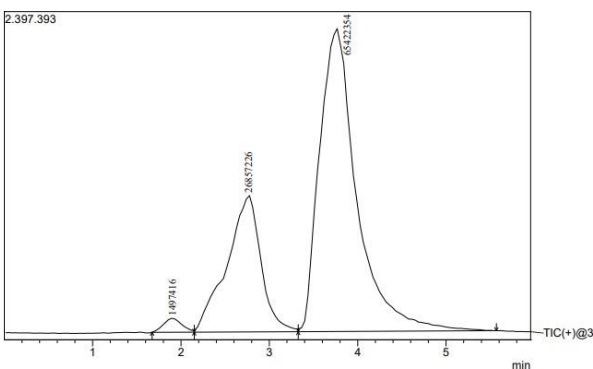
Reação Beta tempo 30 min.



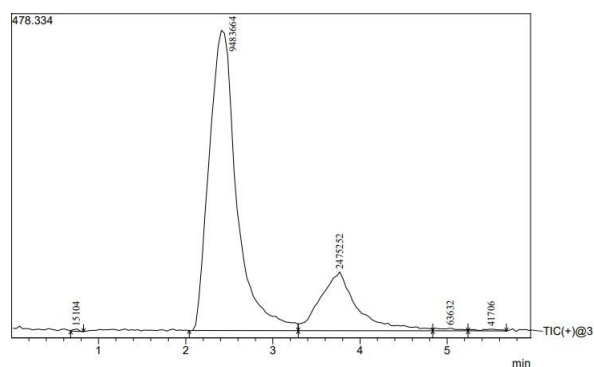
Reação Beta tempo 60 min.



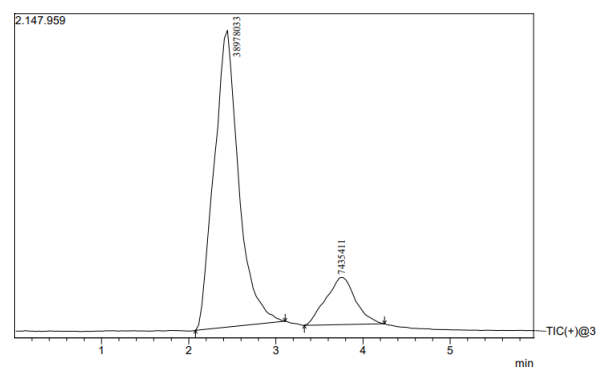
Reação Beta tempo 120 min.



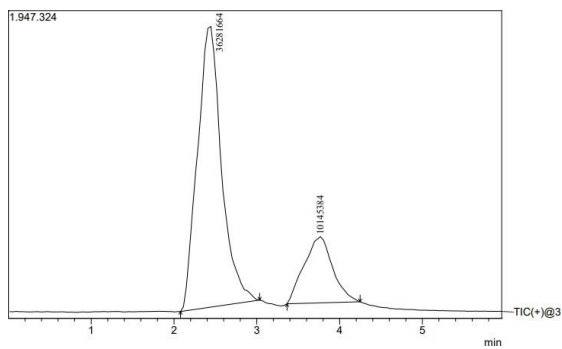
Reação Beta T. I. tempo inicial



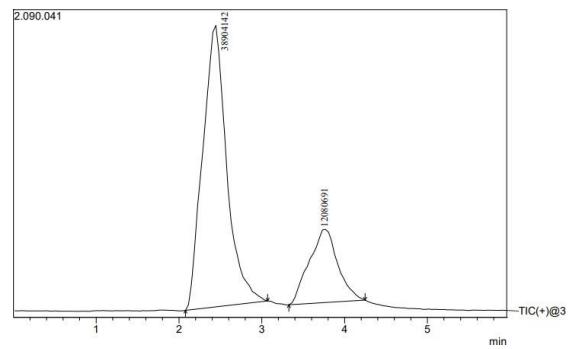
Reação Beta tempo T. I. 10 min



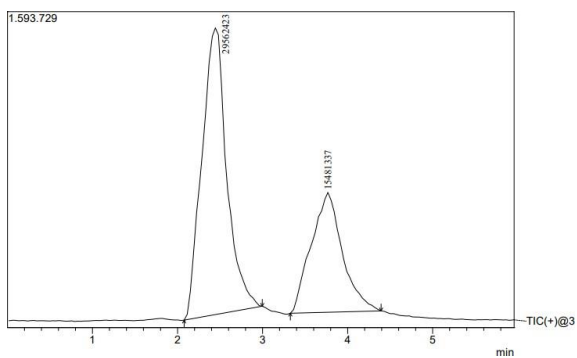
Reação Beta T. I. tempo 30 min.



Reação Beta T. I. tempo 60 min.

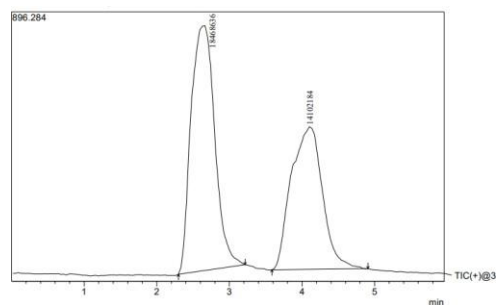


Reação Beta T. I. tempo 120 min.

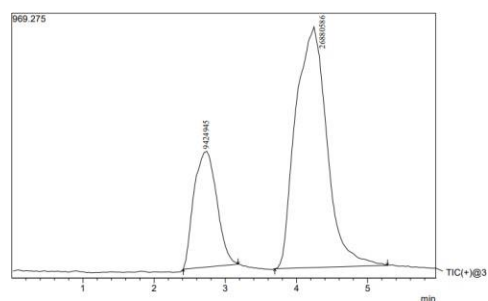


APÊNDICE B – CROMATOGRAFIA DAS REAÇÕES COM O EUGENOL LIMITANTE

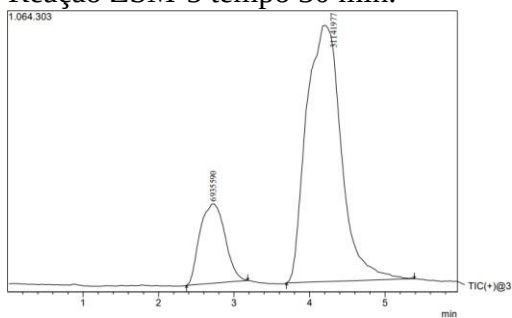
Reação ZSM-5 tempo inicial



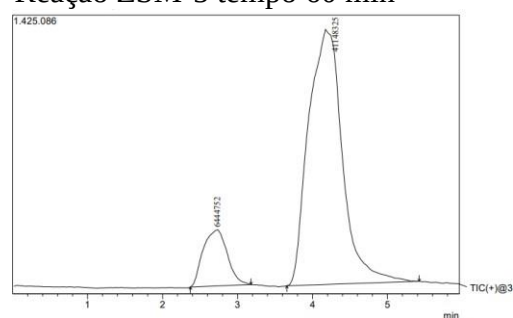
Reação ZSM-5 tempo 10 min.



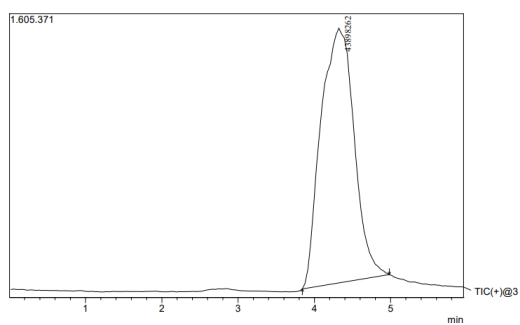
Reação ZSM-5 tempo 30 min.



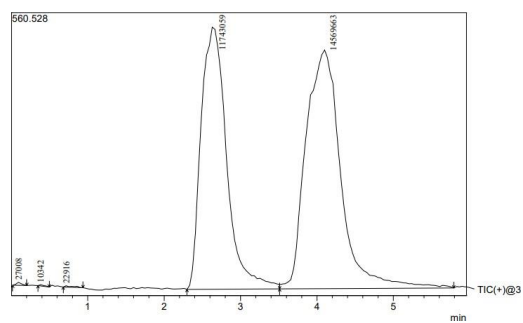
Reação ZSM-5 tempo 60 min



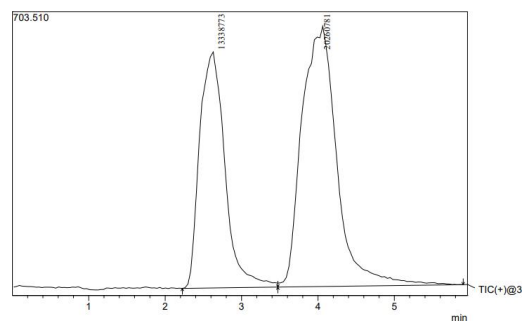
Reação ZSM-5 tempo 120 min.



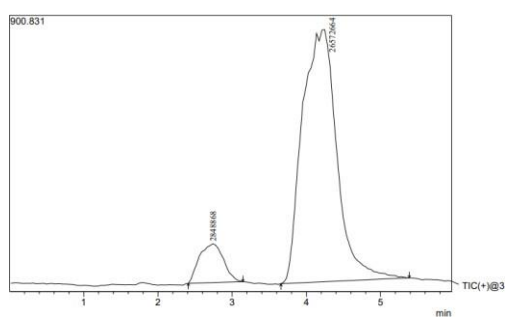
Reação ZSM-5 T. I. tempo inicial



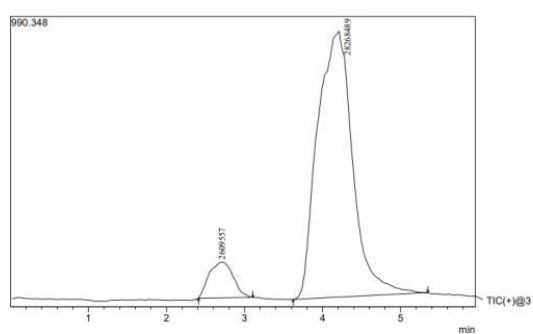
Reação ZSM-5 tempo T. I. 10 min.



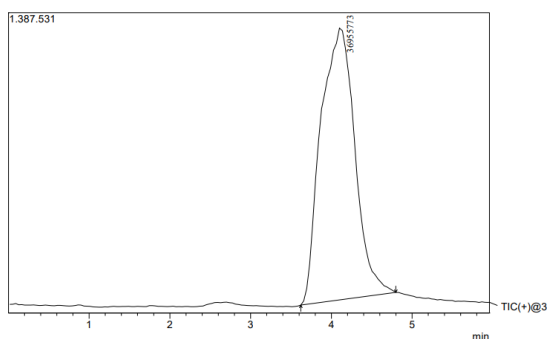
Reação ZSM-5 T. I. tempo 30 min.



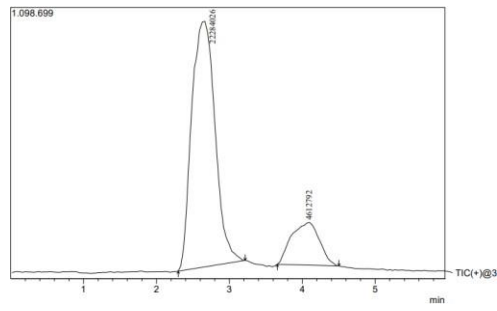
Reação ZSM-5 T. I. tempo 60 min.



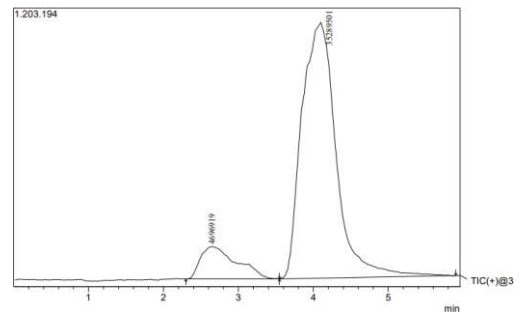
Reação ZSM-5 T. I. tempo 120 min.



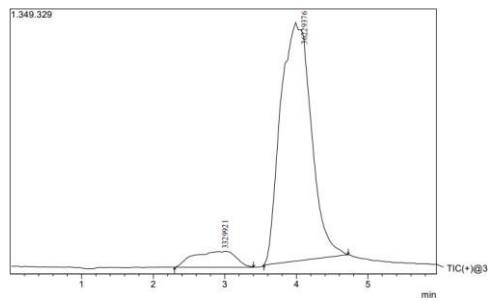
Reação Beta tempo inicial



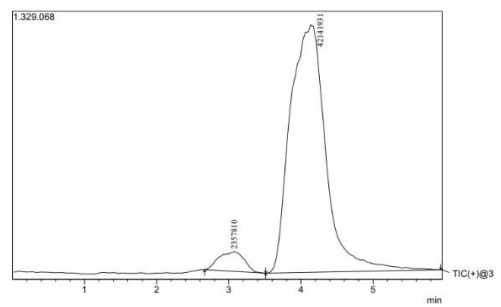
Reação Beta tempo 10 min.



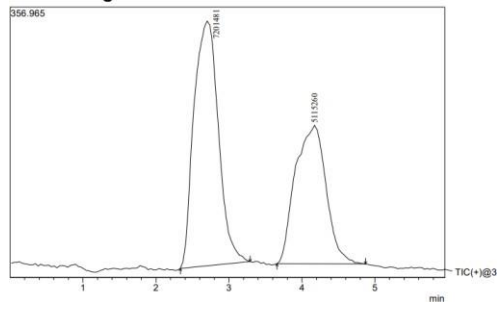
Reação Beta tempo 30 min.



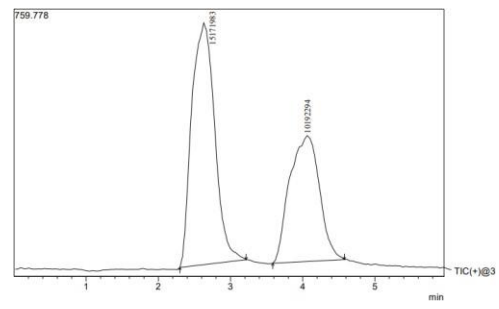
Reação Beta tempo 60 min.



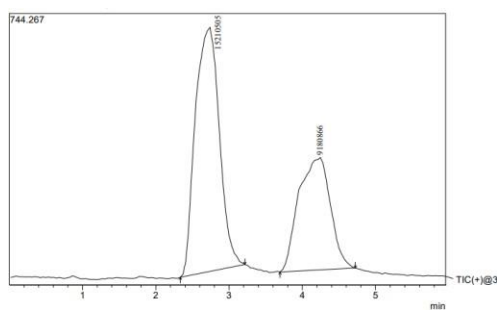
Reação Beta T. I. tempo inicial



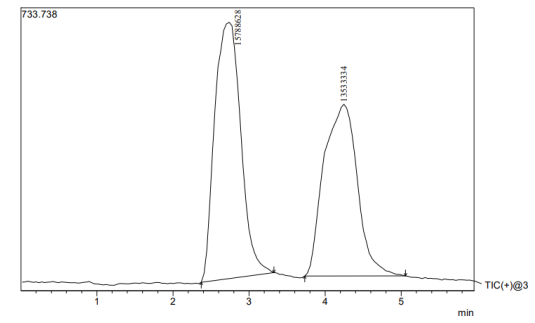
Reação Beta tempo T. I. 10 min



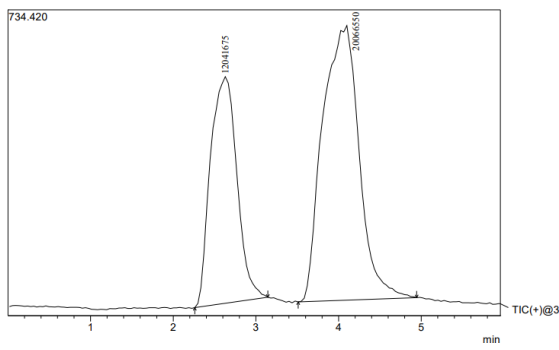
Reação Beta T. I. tempo 30 min.



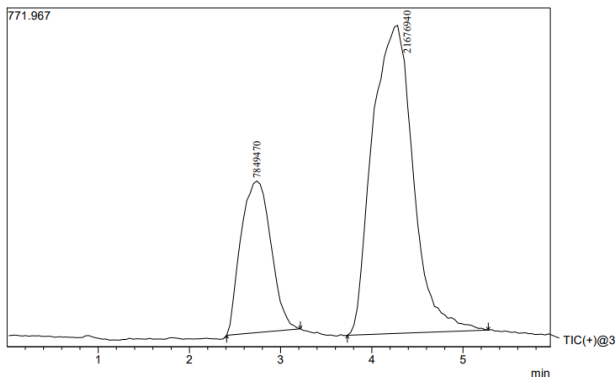
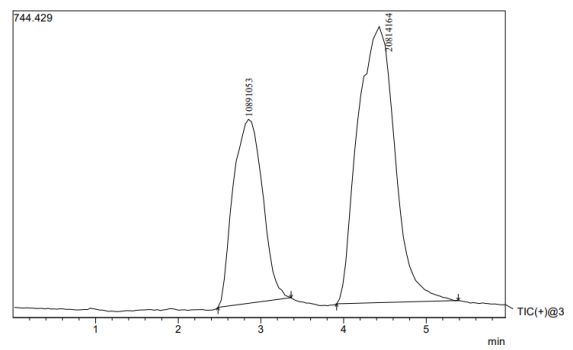
Reação Beta T. I. tempo 60 min.



Reação Beta T. I. tempo 120 min.



Reação Beta T. I. tempo 150 min.



Reação Beta T. I.