

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FOLHAS DE
LARANJEIRA AZEDA E MEXERIQUEIRA**

LUCAS ARAGÃO DA HORA ALMEIDA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
FEVEREIRO- 2013**

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FOLHAS DE LARANJEIRA AZEDA E MEXERIQUEIRA

LUCAS ARAGÃO DA HORA ALMEIDA

Biólogo

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2011

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Fontes Vieira

**Co-Orientador: Prof. Dr. Walter dos Santos Soares
Filho**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

A447

Almeida, Lucas Aragão da Hora.

Caracterização química de óleos essenciais em folhas de laranjeira azeda e mexeriqueira / Lucas Aragão da Hora Almeida. Cruz das Almas, BA, 2013.

67f.; il.

Orientador: Roberto Fontes Vieira.

Coorientador: Walter dos Santos Soares Filho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Plantas oleaginosas. 2. Essências e óleos essenciais.
I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 581.634

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DO LUCAS ARAGÃO DA HORA ALMEIDA**

Prof. Dr. Roberto Fontes Vieira
Universidade Federal do Recôncavo as Bahia - UFRB
(Orientador)

Prof. Dr. Humberto Ribeiro Bizzo
Embrapa Agroindústria de Alimentos - CTAA

Pesq. Dr. Eduardo Augusto Girardi
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais em

Conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em

.....

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria da Gloria, Antonio Aragão e meu irmão Leandro Aragão, pela compreensão e apoio incondicionais que me incentivaram e tornaram possível a realização deste sonho.

À minha namorada Soraya, pelo apoio diário, incentivo, carinho e companheirismo inimaginável.

Aos meus tios especialmente: Delson, Dinalva, Arnaldo, Dinelia, Deilton, Deza e Iara, primos e primas, pelo apoio durante minha vida acadêmica.

Ao Profº Dr. Roberto Fontes Vieira pela orientação, dedicação, paciência e incentivo que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Profº Dr. Walter dos Santos Soares Filho pela co-orientação, sugestões e pelos dois anos de ensinamentos.

À UFRB e Embrapa pela oportunidade e infra-estrutura disponível para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, pelos importantes ensinamentos à minha formação profissional.

À Fapesb pelo suporte financeiro.

Ao Profº Dr. Eduardo Augusto Girardi, pelo interesse, sugestões e ajuda nas coletas.

Aos funcionários da Embrapa Mandioca e Fruticultura, especialmente o Senhor Getúlio, pela ajuda na identificação e marcação das plantas no campo.

Aos meus colegas da Pós-Graduação, Alberico, Mariane e Maiany pelas horas de estudo compartilhado e momentos de diversão e à Cícera, Celma, Janaira, Rafaella, Rangel e Yslai pelo companheirismo na sala de aula.

Ao meu amigo Osvaldo pelos momentos de diversão e conversas.

À Kelly Anselmo e Carlos Henrique pela companhia, convivência, paciência no dia-a-dia e por fazerem da nossa casa uma pequena família.

À Josiana pela extração do óleo essencial e ajuda nas análises dos dados.

Ao Dr. Humberto Bizzo pela realização das análises cromatográficas.

À todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim e pelo sucesso deste trabalho, minha sincera gratidão.

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO 1

Capítulo 1

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE LARANJEIRA AZEDA (*Citrus aurantium*) 23

Capítulo 2

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE MEXERIQUEIRA 42

CONSIDERAÇÕES FINAIS 58

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FOLHAS DE LARANJEIRA AZEDA E MEXERIQUEIRA

Autor: Lucas Aragão da Hora Almeida

Orientador: Roberto Fontes Vieira

Co-orientador: Walter dos Santos Soares Filho

RESUMO: Os óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos também das folhas de laranjeiras azedas e mexeriqueiras contendo em sua composição linalol, limoneno, α -terpineol, *N*-metil-antranilato de metila, γ -terpineno, acetato de linalila, entre outros compostos químicos. Estes compostos apresentam propriedades organolépticas marcantes e são largamente utilizados na indústria de cosméticos, perfumaria, alimentos e na medicina. Efeitos abióticos podem influenciar o teor dos compostos, modificando a composição do óleo essencial. Considerando o potencial de utilização dos OEs de citros, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar as composições químicas de óleos de *petitgrain* de acessos de *Citrus aurantium* L. e de *Citrus deliciosa* Tenore do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O rendimento do óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas e a identificação dos compostos por cromatografia gasosa (CG/FID e CG/MS). Entre os compostos majoritários no *petitgrain* de laranjeira azeda, se destacaram linalol (6,6%-48,9%), acetato de linalila (0,4%-33,8%), α -terpineol (0,3%-10,8%), β -pineno (0,4%-46%), *N*-metil-antranilato de metila (0,7%-30,9). Nas mexeriqueiras, *N*-metil-antranilato de metila (60,4%-84,6%), γ -terpineno (6,1%-19,6%) e limoneno (2,7%-10,2%) obtiveram destaque. Os acessos avaliados mostraram a diversidade de compostos que podem ser obtidos do óleo *petitgrain*, tanto em laranjeira azeda quanto nas mexeriqueiras, apresentando portanto, potencial para utilização comercial.

Palavras-chave: *Citrus aurantium*, *Citrus deliciosa*, *petitgrain*, composição química.

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THE ESSENTIAL OILS FROM THE LEAVES OF SOUR ORANGE AND MANDARINS

Author: Lucas Aragão da Hora Almeida

Adivisor: Roberto Fontes Vieira

Co-advvisor: Walter dos Santos Soares Filho

ABSTRACT: Essential oils, known as secondary metabolites, extracted from the leaves of sour orange and mandarins trees have in their composition linalool, limonene, α -terpineol, methyl *N*-methylantranilate, linalyl acetate, γ -terpinene and other chemical compounds. These compounds show remarkable organoleptic properties and are widely used in cosmetics, perfumes, foods and medicine. Abiotic effects can influence the content of the compounds by modifying their composition. Considering the potential use of *Citrus* essential oils, the objective of this study was to characterize the chemical composition of *petitgrain* over from accessions of *Citrus aurantium* L. and accessions of *Citrus deliciosa* Tenore from the Germplasm Bank of Embrapa Cassava and Fruit. The yield of essential oil was obtained by hidrodistillation of leaves and identification of compounds by gas chromatography (GC/FID and GC/MS). Among the major compounds in sour orange *petitgrain* the follow can be highlighted: linalool (6.6%-48.9%), linalyl acetate (0.4%-33.8%), α -terpineol (0.3%-10.8%), β -pinene (0.4%-46%) and methyl *N*-methylantranilate (0.7%-30.9). Regarding mandarins, methyl *N*-methylantranilate (60.4%-84.6%), γ -terpinene (6.1%-19.6%) and limonene (2.7%-10.27%) were the major ones. The accessions showed a large diversity of compounds that can be obtained from *petitgrain* essential oils, both sour orange and mandarins, and therefore feasible potential for commercial use.

Keywords: *Citrus aurantium*, *Citrus deliciosa*, *petitgrain*, chemical composition.

INTRODUÇÃO

Importância dos citros

O Brasil está entre os três principais produtores de frutas do mundo, com mais de 2 milhões de hectares de área plantada e uma safra estimada pouco superior a 43 milhões de toneladas em 2010. O aumento da produção e, conseqüentemente, do consumo de frutas é reflexo da busca por saúde, além do aumento do poder de compra dos brasileiros, que chegam a consumir 47 quilos de frutas por ano (POLL et al., 2011).

O bom desempenho do agronegócio brasileiro tem íntima relação com a fruticultura, que gera empregos e renda; atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de frutas seguido pela China e Estados Unidos (FAOSTAT, 2011). No universo da fruticultura nacional, a citricultura destaca-se como o segmento de maior importância, compreendendo produtores rurais, viveiristas, indústrias de suco, de óleo essencial, dentre outros (STUCHI & GIRARDI, 2010).

A utilização de um expressivo leque de variedades cítricas, incluindo laranjeiras doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], tangerineiras (diversas espécies), mexeriqueiras (*C. deliciosa* Ten.), limoeiros verdadeiros [*C. limon* (L.) Burm. f.], entre outras, confere à citricultura acentuada importância social e econômica, em nível mundial (BATISTA et al., 2002).

A citricultura brasileira detém a liderança mundial na produção de laranjas doces há várias décadas. A partir de 1927, o Brasil começou a se destacar na exportação de cítricos, situação esta consolidada na década de 1930, passando a laranja *in natura* a fazer parte das exportações brasileiras, encontrando-se, em 1939, entre os dez produtos mais importantes nas exportações, período conhecido como “a primeira fase áurea da citricultura”. Em 1970 foi fundada a Sociedade Brasileira de Fruticultura (SBF), palco de importantes discussões científicas. Em 1980, o país ocupou a posição de maior produtor mundial de laranjas, graças, principalmente, à produção e exportação de seu suco

concentrado congelado (BENELLI, 2010). Esse crescimento teve repercussões sócio-econômicas muito favoráveis, implicando em expressiva geração de empregos diretos e indiretos, além de contribuir com a balança comercial nacional (PEREIRA, 2008; LOPES et al., 2011).

No Brasil, em 2011, a área colhida com frutas cítricas estava ao redor de 817 mil hectares e a produção pouco mais de 19 milhões de toneladas (IBGE, 2011). A cadeia agroindustrial representa cerca de 2% da pauta de exportações brasileiras (STUCHI & GIRARDI, 2010), movimentando em 2009, cerca de US\$ 9 bilhões, distribuídos entre frutas frescas (US\$ 4,07 bilhões), suco pronto para beber (US\$ 3,77 bilhões) e suco concentrado congelado (US\$ 1,18 bilhão) (FAO, 2011).

O Brasil detém cerca de 40% da produção mundial de laranja doce, 60% da produção de suco e 82% do mercado mundial dessa commodity, (NEVES *et al.*, 2007), sendo que o Estado de São Paulo se destaca entre os estados brasileiros produtores, com mais de 80% da produção total, seguido pela Bahia (6%) e Minas Gerais (4,5%) (IBGE, 2011). A região Nordeste é a segunda maior região produtora, com mais de 115 mil hectares cultivados produzindo cerca de 1,8 milhão de toneladas. A citricultura desenvolvida no Litoral Norte e Recôncavo baianos representa o segundo polo produtor de citros do país, com cerca de 52 mil hectares da faixa litorânea do Nordeste ocupados por 19,2 milhões de plantas cítricas (NEVES et al., 2010).

Para além das formas tradicionais de uso destas plantas, alguns produtos são exportados para os países industrializados como matérias-primas de medicamentos, fragrâncias e sabores (SILVA, 1995). Dentre estes, os óleos essenciais que são misturas de compostos voláteis, extraídos de diferentes partes das plantas (SINAI et al., 2000), utilizados por variadas indústrias na composição de perfumes, cosméticos, fármacos, proporcionando sabor a alimentos e como agentes medicinais (BIZZO et al., 2009).

A produção de citros contribui para a sustentabilidade e competitividade do agronegócio, permitindo o aumento da qualidade dos frutos, a possibilidade de abertura de novos nichos de mercado e a exportação dos mesmos (AZEVEDO, 2007).

Origem e taxonomia

Não há dúvida que um dos principais centros de origem das espécies cítricas encontra-se no Suldeste da Ásia (DUGO & DI GIACOMO, 2002), com destaque para *C. sinensis*, espécie pertencente à família *Rutaceae*, em realidade um híbrido natural surgido do cruzamento entre toranjeira [*C. maxima* (Burm.) Merr.] e tangerineira (*C. reticulata* Blanco). Originários notadamente de regiões subtropicais e tropicais do Sul e Sudeste da Ásia, os citros são cultivados em muitos países com clima tropical ou subtropical, sendo que os principais produtores são Brasil, China, Estados Unidos da América, Japão, México, Paquistão e os países da região do Mediterrâneo (TALON & GMITTER, 2008; NUNES et al., 2009; KAMAL et al., 2011).

A mais antiga região de cultivo dos citros compreende o Sudeste da China, Sul da Península Malaia e Oeste de Myanmar, antiga Birmânia, onde se originaram as tangerineiras, toranjeiras e limeiras, estas doces (*C. limettioides* Tanaka; *C. limetta* Risso) e ácidas [*C. aurantiifolia* (Christm.) Swingle]. Existem evidências da exploração destas frutas no Sul da China há mais de 4.000 anos, daí dispersando-se em direção ao sudeste, pelas Filipinas e numerosos grupos de ilhas do Pacífico (SPURLING, 1969).

Os Citros disseminaram-se ao redor do mundo a partir do cultivo de sementes, gerando, com isso, o surgimento de novas variedades com sabores, aromas, cores e tamanhos de frutos variados (BENELLI, 2010). A citricultura destaca-se entre as principais atividades agrícolas mundiais, ocupando uma ampla área geográfica, situada entre os paralelos de 35° de latitude Norte e 35° de latitude Sul, sendo que no Mediterrâneo, devido a condições excepcionais de clima, a cultura é explorada em locais com até 42° de latitude Norte (CAMPOS, 1976).

No Brasil, as plantas cítricas foram introduzidas pelos colonizadores, iniciando o plantio, possivelmente, na Bahia. As condições climáticas favoráveis possibilitaram sua difusão por todo o território nacional (CUNHA et al., 1996; LOPES et al., 2011).

Quanto à classificação taxonômica, são utilizados dois sistemas. Segundo Swingle (1967), existem 16 espécies reconhecidas, divididas em dois subgêneros, *Papeda*, representado por espécies sem valor comercial, e *Citrus*, constituído

pelas espécies de importância econômica. Tanaka (1977) considera 162 espécies, subdivididas nos subgêneros *Archicitrus* e *Metacitrus*.

Botanicamente são classificadas como Espermatófitos, subdivisão das Angiospermas, classe das Dicotiledôneas, subclasse das Geraníneas e família das Rutáceas, que inclui seis subfamílias, sendo a subfamília Aurantioideae composta de duas tribos, sendo a tribo Cítreas dividida em três subtribos, a Citrinas, que possui 13 gêneros, sendo o gênero *Citrus* o que compreende as espécies *C. medica* L. (cidreira), *C. limon* (L.) Burm. f. (limoeiro verdadeiro), *C. aurantiifolia* (Christm.) Swingle (limeira ácida), *C. aurantium* L. (laranjeira azeda), *C. sinensis* (L.) Osbeck (laranjeira doce), *C. reticulata* Blanco (determinadas tangerineiras, como 'Cravo' e 'Ponkan'), *C. maxima* (Burm.) Merr. (toranjeiras), *C. paradisi* Macfad. (pomeleiro) entre outras (GOMES, 1972).

As folhas dos *Citrus* são persistentes, com coloração verde-clara quando novas e passam para o verde mais escuro à medida que envelhecem. Variam de simples a compostas, unifoliadas, com limbos inteiros. Sua forma é elíptica, oval ou lanceolada e de aspecto coriáceo. Os frutos são divididos em pericarpo e sementes. São hesperídios (do latim *hesperidium*), ou seja, o fruto é uma baga (é o tipo mais comum de fruto carnudo simples, no qual a parede do ovário inteiro amadurece em um pericarpo comestível) com muitas sementes, cujo endocarpo é dividido também em câmaras, podendo ser globulosos ou subglobulosos (DE ARAÚJO et al., 2003).

O grupo das mexeriqueiras (*C. deliciosa*) tem na Itália importante região de dispersão (GIACOMETTI, 1991). Possuem porte médio, hábito de crescimento lento e curvado, ramos finos e quase sem espinhos, com folhas pequenas, alongadas e lanceoladas, com aroma distinto. Os frutos são médios e achatados nos polos, com numerosas sementes pequenas e altamente poliembriônicas, com casca fina não coriácea (HODGSON, 1967).

Comumente chamada de laranjeira azeda, *C. aurantium* é cultivada na América Central (Haiti) e do Sul (Paraguai) e em países do Mediterrâneo, como variedade copa visando a extração de óleos essenciais. É nativa do Sul da Ásia, possivelmente da Índia (DONADIO et al., 2005). A coloração da folha de laranjeira azeda é um pouco mais escura que o de laranjeira doce e mais aguçada de conicidade, sendo o pecíolo mais longo e largamente alado. O fruto é geralmente

mais plano e mais colorido, com casca mais espessa e mais aderente. Distingue-se por características marcantes e facilmente reconhecíveis relacionadas ao odor dos óleos nas folhas e casca, agradável e singular (HODGSON, 1967). Possui tolerância a condições ambientais desfavoráveis, como geada e excesso de umidade no solo, bem como resistência a diversas doenças, dentre as quais a gomose, o que implicou em sua utilização como porta-enxerto antes do surgimento do vírus da tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*, CTV), ao qual é altamente intolerante (LOTA¹ et al., 2001).

Óleos essenciais de citros

Estudos com metabólitos secundários de plantas, antes considerados produtos finais de metabolismo sem função aparente, iniciaram-se no século XIX e início do século XX, quando os químicos buscavam novas fontes de matéria-prima para produção de drogas medicinais, aromatizantes, venenos e materiais industriais (TAIZ & ZEIGER, 2004). Pesquisas revelaram que os produtos do metabolismo vegetal podem ser divididos em metabólitos primários ou macromoléculas, essenciais a todos os seres vivos, como lipídios, proteínas e glicídeos, e metabólitos secundários ou micromoléculas, resultantes de rotas biossintéticas de metabólitos primários, sendo tais micromoléculas encontradas em concentrações relativamente baixas em determinados grupos de plantas, geralmente com estrutura complexa, atividades biológicas marcantes e baixo peso molecular (BAKKALI et al., 2008).

Óleos essenciais são definidos como misturas complexas, contendo várias dezenas ou mesmo algumas centenas de substâncias com composição química variada, obtidas através da técnica de hidrodestilação. No caso específico de frutos cítricos, o óleo é obtido através de prensagem a frio (ISO, 1997).

Os óleos essenciais cítricos, que se enquadram na categoria de metabólitos secundários, são matérias-primas de aplicação na cadeia produtiva das indústrias de perfumaria, cosmética, farmacêutica, alimentícia e de polímeros (SILVA-SANTOS & ANTUNES, 2007). Frutos, folhas e flores são bastante aromáticos e, por isso, as espécies de *Citrus* caracterizam-se pela produção de óleos essenciais (ARAÚJO JÚNIOR, 2009). Os óleos essenciais nas folhas são

armazenados em glândulas de óleo cobertas por uma camada de células epidérmicas, geralmente pequenas e com parede espessa que facilitam a secreção do óleo essencial. O óleo é secretado a partir do rompimento de células que compõe as glândulas lisígenas, que possuem forma esférica ou subesférica e ocorrem, geralmente, na face adaxial na região do parênquima paliçádico, onde as células epidérmicas são menores e levemente aprofundadas em relação ao restante do limbo (QUEIROZ-VOLTAN & BLUMER, 2005).

As propriedades terapêuticas e organolépticas dos óleos essenciais, em geral, se devem à presença de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides, entre outros compostos voláteis (FRANZ, 2010), relacionados a propriedades farmacológicas devido à volatilidade e a outras propriedades biológicas (MACHADO & JUNIOR, 2011).

O volume físico da produção de óleo essencial em citros é bastante reduzido se comparado aos volumes de suco e farelo de polpa, porém nos anos de 1996, 1997 e 2000 o valor agregado a este produto superou o valor unitário do suco concentrado (NEVES et al., 2001).

O óleo essencial de laranja foi responsável por 86% das exportações, o de limoeiro por 8%, o de limeira por 3%, o de outros cítricos, como toranja, cidreira e tangerineira, responderam por 2%, e os de bergamoteira e *petitgrain*, juntos, por aproximadamente 1% entre o mês de janeiro de 2005 e outubro de 2008 (BIZZO et al., 2009).

Dados do Sistema ALICE-Web, que fornece informações atualizadas mensalmente sobre os dados estatísticos das exportações e importações brasileiras, mostrou que no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2012, a exportação de óleos essenciais *petitgrain* de cítricos pelo MERCOSUL foi de aproximadamente 150 bilhões de quilos.

Há três tipos distintos de óleo essencial obtido dos citros: o óleo de flor, conhecida como o óleo de *neroli*, o óleo das folhas e rebentos (ramos novos), conhecidos como óleo de *petitgrain* e o óleo de frutos em geral, conhecido simplesmente como "óleo de laranja".

O óleo essencial extraído da casca das frutas cítricas tem grande importância na aromatização de alimentos e bebidas, porém os diferentes óleos obtidos a partir das folhas de citros podem ter igual importância, podendo ser

utilizados na composição de perfumes. Com o aumento do interesse na utilização dos óleos cítricos na produção de cosméticos surgiu a necessidade de obter informações sobre a constituição do óleo das folhas de laranjeira (FADEL, 1991).

O termo *petitgrain* foi inicialmente utilizado para representar o óleo extraído de pequenos frutos verdes de laranjeira azeda, passando posteriormente a referenciar o óleo essencial obtido da destilação de galhos e folhas de citros em geral. No fim do século XIX, sua produção estava restrita à Espanha, Itália, Brasil, França (Provence), Haiti e Norte da África e mais tarde ao Paraguai (DUGO & DI GIACOMO, 2002).

Importância dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são utilizados na indústria para conferir aroma e sabores especiais a produtos alimentícios, perfumaria, produtos de limpeza, aromatizantes de ambiente, higiene oral e repelentes. A indústria de cosméticos chega a ocupar cerca de 14% do mercado no Brasil (SOUZA et al., 2010).

Nas plantas de citros, a produção de óleo essencial pelas folhas é considerada um produto secundário, já que não está relacionada às funções metabólicas principais, como respiração e fotossíntese, porém é de grande serventia na proteção contra microorganismos e predadores (SIANI et al., 2000).

O uso medicinal de óleos essenciais tem sido passado por gerações (UMEZU et al., 2002), sendo geralmente utilizados, popularmente, no controle das emoções e humor, como sedativos, ansiolíticos, antidepressivo e anticonvulsivo (KOMORI et al., 1995; VIANA et al., 2000; DE-SOUZA et al., 2006; SOUSA et al., 2007). Alguns estudos apontam para o efeito positivo do uso do óleo essencial em pacientes com sintomas de depressão e ansiedade, sendo uma possível alternativa aos medicamentos sintéticos (GUMNICK & NEMEROFF, 2000). Estudos realizados em ratos expostos a fragrância cítrica acusaram efeitos antidepressivo e ansiolítico nos mesmos, atribuídos à presença do componente limoneno, que atua no sistema nervoso central e está presente no óleo essencial cítrico (LEITE et al., 2008).

A produção nacional de óleos essenciais é insuficiente para atender a demanda interna, tanto que a indústria nacional importa a maior parte dos óleos aromáticos. O mercado nacional caracteriza-se por apresentar demanda aos

óleos essenciais diversificados, sendo que o país possui espécies com acentuado aroma, cujo valor permanece desconhecido (IAC, 2005).

O termo *petitgrain*, muitas vezes chamado de *petitgrain bigarade*, é considerado de grande importância comercial devido às suas propriedades de fragrância. O óleo *petitgrain* tem sua produção principalmente no Mediterrâneo e Paraguai, sendo as características olfativas distintas entre essas regiões (DUGO & DI GIACOMO, 2002).

Acessos de mexeriqueira e laranjeira azeda

A Embrapa Mandioca e Fruticultura conta com um Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) com cerca de 813 acessos, conservados *in vivo*, variando de 2 a 12 plantas por acesso. As laranjeiras azedas (*Citrus aurantium* L.) são representadas por sete acessos que se destacam pelo odor singular (Figura 1), enquanto as mexeriqueiras (*Citrus deliciosa* Tenore) por oito acessos (Figura 2).

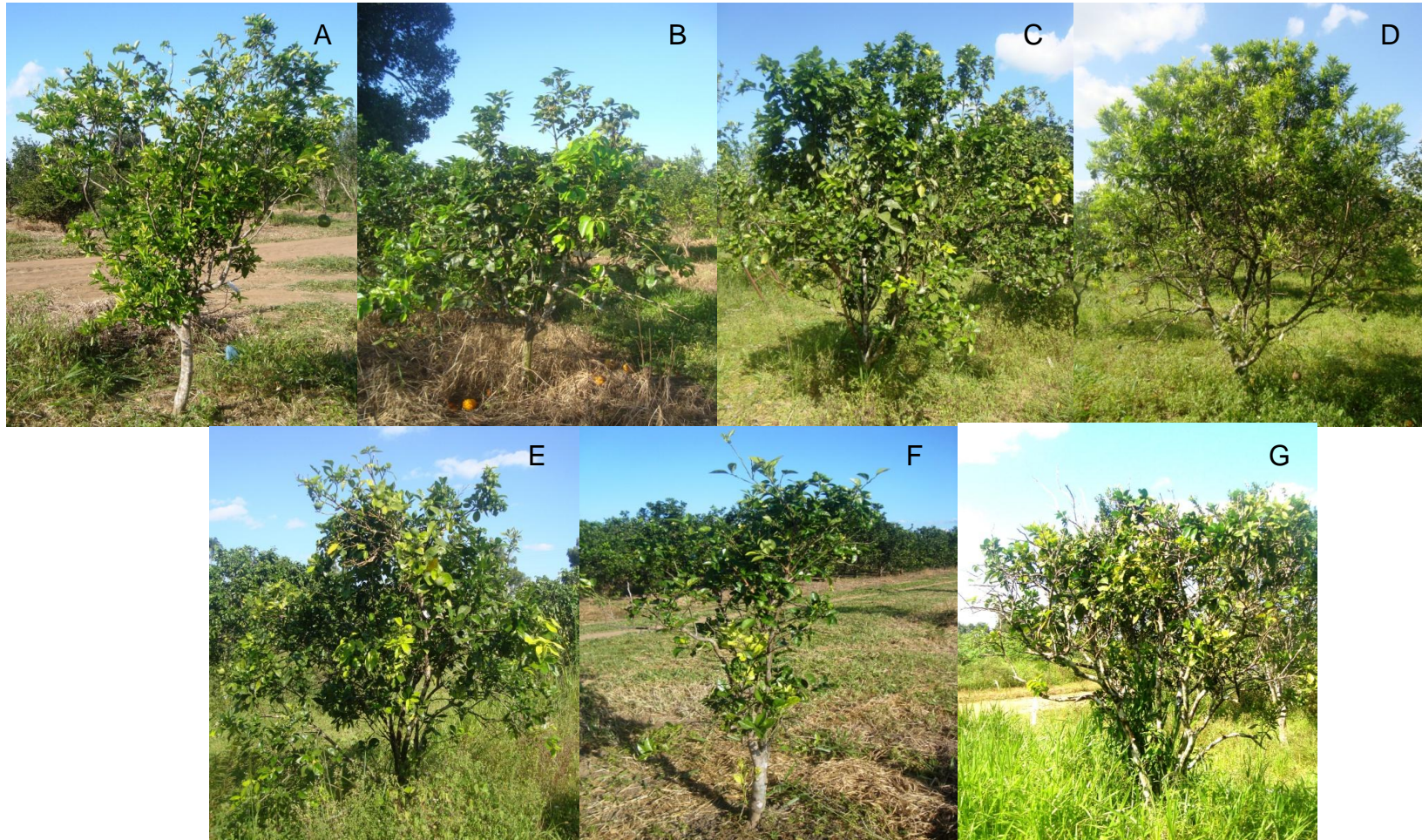


Figura 1. Acessos de laranja azeda do BAG-Citros utilizados na extração e identificação da composição química dos óleos essenciais. A-Laranja 'Azeda Double Calice' (BGC010), B-Híbrido de laranja 'Azeda Gou Tou Chen'(BGC008), C-Laranja 'Azeda Narrow Leaf'(BGC011), D-Laranja 'Azeda sem Espinho'(BC012), E-Laranja 'Azeda Zhuluan'(BGC015), F-Laranja 'Azeda Sour Orange'(BGC014), G- Laranja 'Azeda Comum' (BGC009).

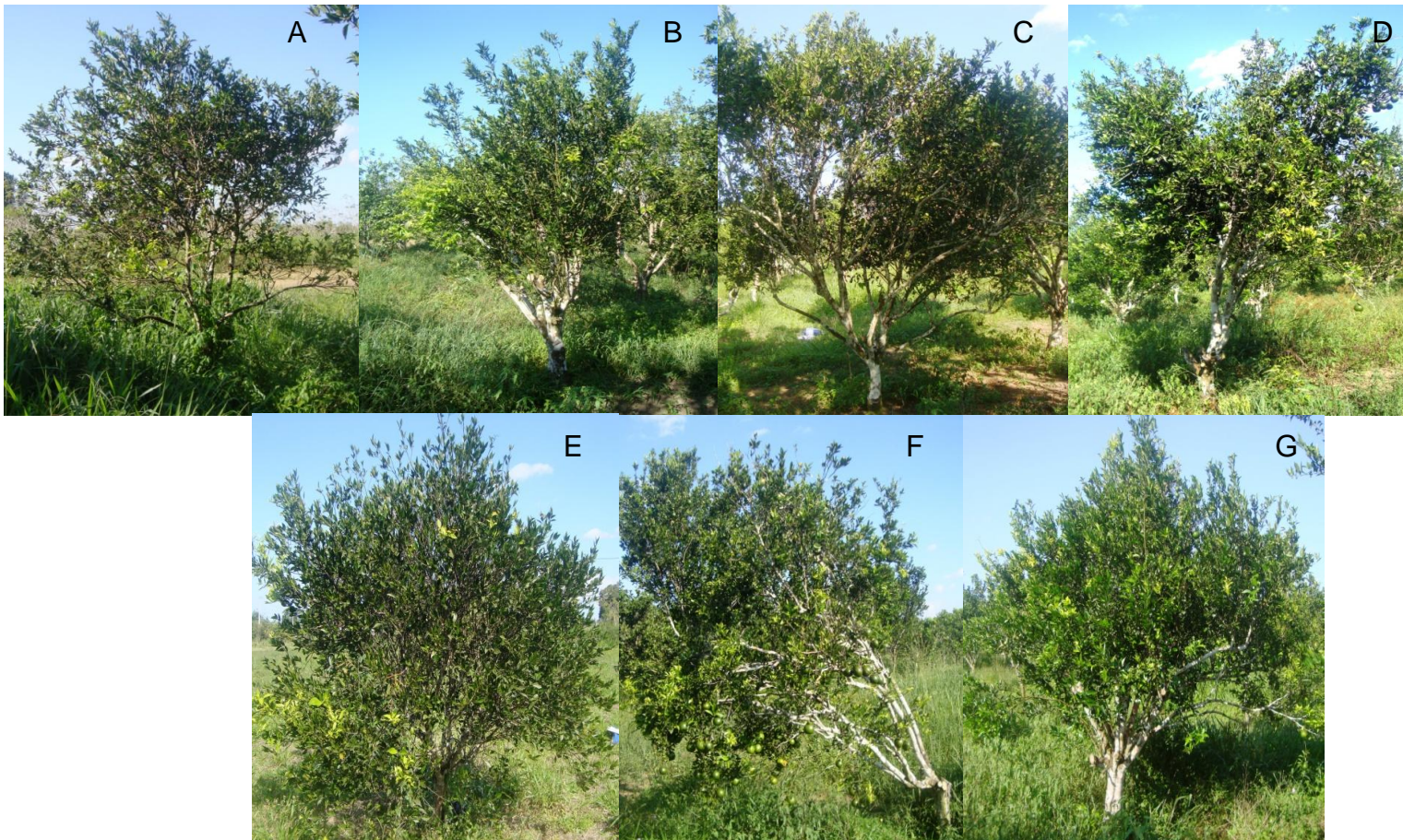


Figura 2. Acessos de mexeriqueira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, utilizadas para identificação de compostos secundários nas folhas. A- Mexeriqueira 'Comum' (BGC33), B-Mexeriqueira 'Giant of Sicily' (BGC35), C-Mexeriqueira 'Precoce' (BGC40), D-Mexeriqueira 'Romana' (BGC41), E-Mexeriqueira 'Tetraploide 1585' (BGC43), F-Mexeriqueira 'Tua' (BGC44), G-Mexeriqueira 'Willow Leaf' (BGC45).

Métodos de Extração

Conforme o método empregado na extração de um óleo essencial, suas características podem ser alteradas, fazendo com que seus efeitos terapêuticos, possivelmente, também sejam alterados (MACHADO & JUNIOR, 2011). O método de extração escolhido deve estar de acordo com o objetivo de utilização, pois o óleo essencial é sensível à temperatura, luz, umidade e presença de oxigênio e de metais, o que os torna muito instáveis, podendo sofrer inúmeras reações de degradação, o que interferirá em sua qualidade e quantidade (GUIMARÃES et al., 2008).

A extração de uma essência pode ser realizada por hidrodestilação, arraste a vapor, maceração, extração por solvente, enfleuragem, flúidos supercríticos (MACHADO & JUNIOR, 2011), sendo os processos de arraste a vapor e hidrodestilação os mais utilizados na obtenção do óleo essencial no Brasil e em outros países produtores de óleo essencial de citros. (CRAVEIRO et al., 1981)

Hidrodestilação é um processo que consiste em colocar do material vegetal em um balão contendo água, sendo a mistura obtida aquecida e o vapor resfriado em um condensador por onde há fluxo de água para refrigeração. O produto da condensação é recolhido e a separação do óleo e da água se dá por decantação.

Quando realizada por destilação por arraste a vapor, as substâncias orgânicas são separadas através do vapor d'água, que em contato com a membrana celular libera o óleo contido nas glândulas. O óleo junto ao vapor d'água é resfriado, ocorrendo a condensação. O óleo coletado é seco com o auxílio do sulfato de anidro e armazenado em recipiente protegido (SILVA-SANTOS & ANTUNES, 2007).

Prensagem a frio é um método empregado pelas indústrias de suco para obtenção óleo das cascas dos frutos cítricos, chamado de concreto. São utilizadas prensas hidráulicas para extrair o suco e o óleo contido nos bolsões de óleo. A casca da laranja é cortada e prensada durante o processo, liberando a mistura que é transferida para uma centrífuga onde o óleo puro é obtido. Pelo processo de separação de misturas (centrifugação) o óleo essencial é separado da água.

A utilização de flúidos supercríticos é um procedimento que consiste no uso de gases densos como solventes, constituindo uma alternativa aos outros métodos de extração, apresentando o produto obtido alto grau de pureza e, conseqüentemente, maior valor agregado (RIZVI et al., 1986). A extração por este método necessita de alto investimento, mesmo sendo o solvente supercrítico reaproveitado, apenas pelo ajuste de pressão e/ou temperatura, eliminado assim a etapa de separação entre solvente e composto extraído. A extração de princípios aromáticos de especiarias, obtenção de insumos farmacêuticos, óleos essenciais de frutas e sementes utilizando a extração supercrítica vem ganhando espaço por ser um processo com maior controle da extração e seletividade (MICHIELIN, 2002).

Composição do óleo essencial de citros

O óleo essencial de citros é uma mistura de compostos aromatizantes, voláteis, quimicamente instáveis, extraídos por processos específicos de diferentes partes da planta. São constituídos principalmente de monoterpenos, que possuem altos níveis de insaturação e são geralmente instáveis, devido a muitos fatores, tais como luz, calor, oxidação e hidratação (ARAÚJO JÚNIOR, 2009).

A produção dos metabólitos concentra-se, geralmente, nas cascas de frutos e nas folhas (ELLOUZE et al., 2012). Quando realizada nas folhas, é armazenada nos espaços intersticiais entre a cutícula e a parede celular, compreendendo, basicamente, terpenos sintetizados pela rota do ácido mevalônico (FERRI, 1996).

Devido à presença de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos relacionados a características organolépticas, os óleos essenciais constituem matérias-primas de grande importância para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia (BIZZO et al., 2009).

Fatores genéticos determinam a composição química dos óleos essenciais, mas os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente, o que pode direcionar a rota metabólica produzindo diferentes compostos. As interações e possíveis correlações planta-

microrganismos, planta-insetos e planta-planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos, como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita, podem exercer influência na composição do óleo essencial (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

A utilização dos óleos essenciais está vinculada à sua composição, sendo importante a escolha da espécie vegetal que apresenta o componente ativo, em que época a produção é satisfatória, quais são as práticas agrícolas necessárias e como processar o material para obter o máximo aproveitamento do óleo (CELIK TAS et al., 2007). A produção de plantas aromáticas e medicinais possui certas particularidades, já que é de interesse do produtor aumentar a biomassa e o teor de princípios ativos (BEZERRA et al., 2008).

Os diferentes genótipos de citros geram óleos essenciais com composições variadas, mesmo quando cultivadas em um mesmo ambiente. Estas diferenças são importantes tanto para fins genéticos e taxonômicos quanto para a relevância econômica, industrial e implicações cosméticas (ALONZO, 2000).

A laranja conhecida como “azedada” é cultivada na América Central e do Sul e em países do Mediterrâneo, estando relacionada a quatro espécies botânicas: *C. aurantium*, *C. myrtifolia* Raf., *C. natsudaidai* Hayata e *C. neoaurantium* Tanaka. O óleo essencial (*petitgrain*) é produzido principalmente pela França, Itália, Espanha e Paraguai, que, juntamente com outros países do Mediterrâneo, chegaram a produzir cerca de 260 toneladas anuais, sendo seu aroma característico, muito utilizado pela indústria de cosméticos devido a composição química predominante de linalol, acetato de linalila, α -terpineol entre outros (LOTA¹ et al., 2001).

Dentre os compostos presentes no óleo *petitgrain* de mexeriqueira (*Citrus deliciosa* Ten.) destacam-se o limoneno, linalol, sabineno, γ -terpineno e *N*-metil-antranilato de metila (LOTA² et al., 2001). Enquanto entre as laranjeiras azedas (*Citrus aurantium* L.), os mais comuns são acetato de linalila, α -terpineol, acetato de nerilo, acetato de geranilo, β -pineno, nerol, terpinoleno e outros (LOTA¹ et al., 2001). A Figura 3 ilustra as formas estruturais destes compostos. Estes compostos são largamente requeridos pela indústria, na produção de cosméticos

e produtos de limpeza, perfumaria, produtos aromáticos, como repelente de insetos, como antifúngico, antioxidante e anti-sépticos.

O aumento na utilização dos óleos essenciais impulsionou as pesquisas na área, levando à descoberta de cerca de 3000 óleos essenciais, dos quais 300 são comercialmente importantes para as indústrias farmacêutica, de alimentos, agrônômica, sanitária, de cosméticos e perfumes (BAKKALI et al., 2008).

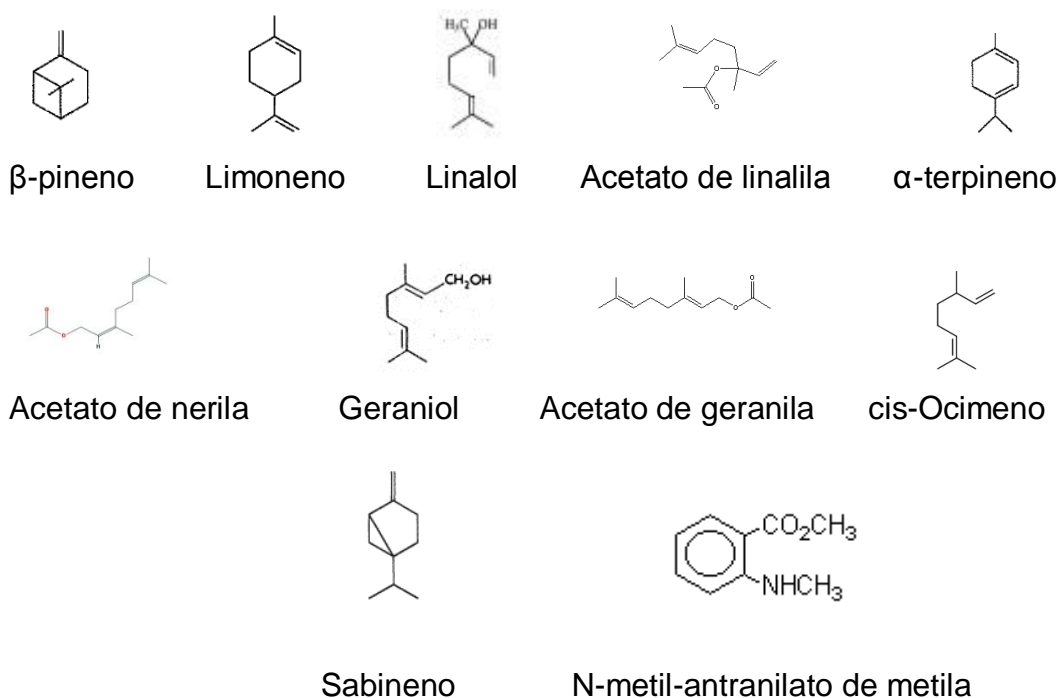


Figura 3: Formas estruturais dos principais compostos presentes no *petitgrain* de *Citrus*.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura detém uma rica diversidade genética em seus bancos ativos de germoplasma (BAG's), utilizando estes recursos genéticos para o desenvolvimento de alimentos. As substâncias químicas presentes neste germoplasma, especialmente o de citros, podem ter aplicações em outros setores produtivos, como nas indústrias de cosmética, perfumaria e farmacêutica. Estes novos usos irão contribuir para a valorização do material genético e fortalecer o sistema produtivo do país. Para tal, entretanto, há necessidade de se conhecer melhor os bioativos presentes neste germoplasma, identificando as substâncias bioativas com potencial industrial entre acessos, agregando valor as folhas de laranja azeda e mexeriqueiras, promovendo, assim, a valorização do BAG-Citros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALICEWEB - Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior. **Desenvolvimento**. Disponível em: <<http://aliceweb2.mdic.gov.br//consulta-ncm/index/type/exportacaoNcm>> Acesso em 20 de março de 2013.

ALONZO, G.; S. BOSCO, F.D.; PALAZZOLO, E.; SAIANO, F.; TUSA, N. *Citrus* somatic hybrid leaf essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 15, n. 4, p.147-151, 2000.

ARAÚJO JÚNIOR, C. P. **Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais de frutas cítricas**. 2009. 80p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal Rural de Pernambuco.

AZEVEDO, C. L. L. **Produção Integrada de Citros - BA**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2ed. Versão eletrônica, 2007. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 28/10/2011 .

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BATISTA, D. C. P.; AZEVEDO, E. C. G.; BERNHARD, T. Viabilidade da produção ecológica de *Citrus* no interior de Montenegro, RS. **Caderno de Pesquisa série Biologia**. v. 14, n. 2, p. 07-15, 2002.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração**. 2010. 233p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina.

BEZERRA, A. M. E.; MEDEIROS FILHO, S.; OLIVEIRA, L. D. M.; SILVEIRA, E. R. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 026-029, 2008.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais. Desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

CAMPOS, J. S. de. **Cultura dos citros**. Campinas, SP, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1976. 100p.

CELIK TAS, Y. O.; KOCABAS, E. E. H.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 100, p. 553–9, 2007.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. de A.; ALENCAR, J. W. de. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: UFC- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, 1981, 210 p.

CUNHA SOBRINHO, A. P.; MAGALHÃES, A. F. J.; NASCIMENTO, A. S.; SANTOS FILHO, H.P.; SOUZA, L. D.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. S.; COELHO, Y. S. Cultivo dos citros. **Circular Técnica 26**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 43 p.1996.

DE ARAÚJO, E.; DE QUEIROZ, L.; MACHADO, M. What is *Citrus*? Taxonomic implications from a study of cp-DNA evolution in the tribe Citreae (Rutaceae subfamily Aurantioideae). **Organisms Diversity and Evolution**, v. 3, p. 55-62, 2003.

DE-SOUZA, M. M.; GARBELOTO, M.; DENEZ, K.; EGER-MANGRICH, I. Avaliação dos efeitos centrais dos florais de Bach em camundongos através de modelos farmacológicos específicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16. p. 365-371, 2006.

DONADIO, L. C.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MOREIRA, C. S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In:

MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JÚNIOR, J. **Citros**: principais informações e recomendações de cultivo. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. 929 p.

DUGO, G.; DI GIACOMO, A. **Citrus, The genus Citrus**. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. v. 26, p. 1-15, 2002.

ELLOUZE, I.; ABDERRABBA, M.; SABAOU, N.; MATHIEU, F.; LEBRIHI, A.; BOUJILA, J. Season's Variation Impact on *Citrus aurantium* Leaves Essential Oil: Chemical Composition and Biological Activities. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, 2012.

FADEL, H. H. M. Comparison studies on leaf oils of egyptian *Citrus* varieties. **Journal of Islamic Academy of Sciences**, v. 4, n. 3, p. 196-199, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Production**, 17 mai., 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 23/01/2013.

FERRI, P. H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais**: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Fundação Editora Unesp, cap. 10, p.129-156, 1996.

FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p. 112-113, 2010.

GIACOMETTI, D. C. Taxonomia das espécies cultivadas de citros baseada em filogenética. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A. A. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2ed. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 99-115, 1991.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. São Paulo, editora. Nobel, v. 11, 1972. 446 p.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF) **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, 2008.

GUMNICK, J. K.; NEMEROFF, C. B. Problems with currently available antidepressants. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, p. 5-15, 2000.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HODGSON, R.W. Horticultural varieties of *Citrus*. In: REUTHER, W., BATCHELOR, L.D., WEBBER, H.J. (Eds). **The Citrus industry**. VI Berkeley: University of California. p.431-591, 1967.

IAC. III Simpósio brasileiro debateu setor de óleos essenciais no IAC In: **O IAC e a comunidade**. Campinas, n. 3, v.b57, p. 29-30, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. 2011 Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=11>> . Acesso em 23 de janeiro de 2013

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Aromatic natural raw materials – Vocabulary: ISO 9235. Genebra, 1997. 8p

KAMAL, G. M.; ANWAR, F.; HUSSAIN, A. I.; SARRI, N.; ASHRAF, M. Y. Yield and chemical composition of *Citrus* essential oils as affected by drying pretreatment of peels. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1275-1282, 2011.

KOMORI, T.; FUJIWARA, R.; TANIDA, M.; NOMURA, J. Effects of *Citrus* fragrance on immune function and depressive state. **Neuroimmunomodulat**, v. 2, p. 174-180, 1995.

LEITE, M. P.; FASSIN-JR, J.; BAZILONI, E. M. F.; ALMEIDA, R. N.; MATTEI, R.; LEITE, J. R. Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, p. 661-666, 2008.

LOPES, J. M. S.; DÉO, T. F. G.; ANDRADE, B. J. M.; GIROTO, M.; FELIPE, A. L. S.; JUNIOR, C. E. I.; BUENO, C. E. M. S.; SILVA, T. F.; LIMA, F. C. C. Importância econômica do citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, n. 20, 2011.

LOTA¹, M.-L.; SERRA D. de R.; C.; JACQUEMOND, F. T.; CASANOVA, J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange. **Flavour Fragrance Journal**, v. 16, p. 89–96, 2001.

LOTA², M.-L.; SERRA, D. R.; TOMI, F.; CASANOVA J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 77-04, 2001.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Caderno Acadêmico**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MICHIELIN, E. M. Z. **Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina de cavalinha (*Equisetum arvense*)**. 2002, 105p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina.

NEVES, E. M.; DAYOUB, M.; DRAGONE, D. C.; NEVES, M. F. – Citricultura Brasileira: Efeitos Econômicos – Financeiros, 1996 - 2000. **Sociedade Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 432 – 436, 2001.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F.; TROMBIN, V. G.; AMARO, A. A.; NEVES, E. M.; JANK, S. **Caminhos para a citricultura**: uma agenda para manter a liderança mundial. São Paulo: Atlas. 2007, p. 110.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F. KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. São Paulo: Independente. Editora Markestrat, 2010, v. 1, 137p.

NUNES, P. M. P.; SMOLAREK, F. S. F.; KAMINSKI, G. A. T.; FIN, M. T. ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. A importância do aproveitamento dos resíduos industriais da semente de *Citrus*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.10, n.1, 2009.

PEREIRA, L. G. B. Minador-das-folhas-dos-citros e bichofurão: pragas de importância econômica da cultura do *Citrus* sp. **Dossiê técnico**, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, CETEC, 20p. 2008.

POLL, H.; VENCATO, A. Z.; KIST, B. B.; SANTOS, C.; CARVALHO, C. REETZ, E. R.; BELING, R. R. **Anuário brasileiro da fruticultura 2011**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2011, p.128.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B. ; BLUMER, S. Morfologia dos Citros. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P.. (Org.). **Citros**. 1ed.Cordeirópolis: Centro APTA Citros Sylvio Moreira, v. 1, p. 105-123, 2005.

RIZVI, S. S. H.; DANIELS, J. A.; BENADO, A. L.; ZOLLWEG, J. A. Supercritical fluid extraction: operating principles and food applications. **Food Technology**. p.57-64, 1986.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Ano 3, n. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, K. T. Development of essential oil industries in developing countries. IN: **A manual on the essential oil industry**. Terceiro workshop de óleo essencial, aroma e química industrial. Vienna, Austria. 232p. 1995.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S. Óleos Essenciais: A Fonte dos Aromas e Fragrâncias. In: Adelaide Maria de Souza Antunes. (Org.). **Setores da Indústria Química Orgânica**. 1ed. Rio de Janeiro: E-papersv, p. 145-160, 2007.

SOUSA, D. P.; NÓBREGA F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ALMEIDA, R. N.; LEITE, J. R.; MATTEI, R. Pharmacological effects of the monoterpene α,β -epoxy-carvone in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 170-175, 2007.

SOUZA, S. A. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 6, n.10, 2010.

SPURLING, M.B. *Citrus* in the Pacific area. In: **Internacional Citrus Symposium**, 1ed. Riverside. Proceedings... Riverside, CA: University of California, v. 1, p.93-101, 1969.

SUTCHI, E. S.; GIRARDI, E. A. Utilização de práticas culturais na citricultura frente ao Huanglongbing. **Documento 191**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010, 75p.

SWINGLE, W, T. The botany of *Citrus* and its wild relatives. In: Reuther, W., WEBER, H. J., BATCHELOR, L. D.(eds). **The Citrus Industry. History, world distribution, botany and varieties**. California: Berkeley University of California Press, v. 1, p. 190-430, 1967.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro. Artmed, 3ª ed. 720 p, 2004.

TALON, M.; GMITTER Jr., F. G. *Citrus* Genomics. **International Journal of Plant Genomics**, p. 17, 2008.

TANAKA, T. Fundamental discussion of *Citrus* classification. **Studia Citrologica**, v. 14, p. 1-6, 1977.

UMEZU, T.; ITO, H.; NAGANO, K.; YAMAKOSHI, M.; OOUCHI, H.; SAKANIWA, M.; MORITA, M. Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. **Life Science**, v. 72, p. 91-102, 2002.

VIANA, G. S. D.; VALE, T. G.; SILVA, C. M. M.; MATOS, F. J. D. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) Ne Brown. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 23, p. 1314-1317, 2000.

CAPÍTULO 1

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE LARANJEIRA AZEDA (*Citrus aurantium* L.)

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE LARANJEIRA AZEDA (*Citrus aurantium* L.)

Autor: Lucas Aragão da Hora Almeida

Orientador: Roberto Fontes Vieira

Co-orientador: Walter dos Santos Soares Filho

RESUMO: O teor e a composição química do óleo essencial em folhas de sete acessos de laranjeira azeda foram analisados com o objetivo de caracterizar o Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura no inverno de 2011 e verão de 2012. O rendimento do óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas e a identificação dos compostos por cromatografia gasosa (CG/FID e CG/MS). Entre os compostos majoritários no *petitgrain* de laranjeira azeda se destacaram linalol (6,6%-48,9%), acetato de linalila (0,4%-33,8%), α -terpineol (0,3%-10,8%), β -pineno (0,4%-46%), *N*-metil-antranilato de metila (0,7%-30,9). Os acessos se comportaram de maneira semelhante nas duas épocas de coleta quanto ao teor de óleo e variações na composição.

Palavras-chave: *petitgrain*, terpineno, metabólitos secundários.

YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL IN LEAES OF SOUR ORANGE (*Citrus aurantium* L.)

Author: Lucas Aragão da Hora Almeida

Adivisor: Roberto Fontes Vieira

Co-advvisor: Walter dos Santos Soares Filho

ABSTRACT: The essential oil content and composition in leaves of seven accessions of sour orange were analyzed to characterize the Germplasm Bank of Embrapa Cassava and Fruit in winter 2011 and summer 2012. The yield of essential oil was obtained by hydrodistillation of leaves and identification of compounds by gas chromatography (GC/FID and GC/MS). Among the major compounds in *petitgrain* sour orange can be highlighted linalool (6.6%-48.9%), linalyl acetate (0.4%-33.8%), α -terpineol (0.3%-10.8%), β -pinene (0.4%-46%)

and methyl *N*-methylantranilate (0.7%-30.9). The accessions showed a similar profile in both harvests on the oil content and composition variations.

Keywords: *petitgrain*, terpinene, secondary metabolites

INTRODUÇÃO

As frutas cítricas são dentre as espécies arbóreas as frutas mais importantes do mundo (NUNES, et al., 2009), sendo produzidas em vários países de clima tropical e subtropical (KAMAL et al., 2011; SURYAWANSHI, 2011). Originadas do sudeste asiático (DUGO & Di GIACOMO, 2002), as plantas cítricas foram introduzidas no Brasil pelos colonizadores, iniciando o plantio, possivelmente, na Bahia. As condições climáticas favoráveis possibilitaram a difusão da espécie por todo o território nacional (CUNHA, 1996).

A laranja azeda (*Citrus aurantium* L.) pertence à família Rutaceae, é conhecida também por laranja amarga e laranjeira cavalo. O óleo essencial obtido de seus frutos e folhas é utilizado no tratamento de insônia (Carvalho-Freitas & Costa, 2002), como inseticida (WANG et al., 2001), anti-inflamatório, anticanceroso, anti-viral e atividades anti-bacterianas e aprimoramento da resposta imune (KIM, 2012).

O óleo essencial (OE) pode ser obtido das folhas (*petitgrain*), das flores (*neroli*) e dos frutos (óleo de laranja). O óleo extraído de pequenos frutos verdes de laranja azeda foi inicialmente identificado com *petitgrain*, posteriormente passou a referenciar o óleo essencial obtido da destilação dos gomos e folhas. No fim do século XIX a produção estava restrita a Espanha, Itália, Brasil, Provence, Haiti e Norte da África e mais tarde no Paraguai (DUGO & DI GIACOMO, 2002). No ano de 2011, o Brasil chegou a exportar cerca de 25 milhões de quilos de óleo essencial de laranja, que renderam aproximadamente 112 milhões de dólares (USND, 2011).

Os OE de Citros são utilizados pelas indústrias de alimentos e cosméticos, na aromaterapia e pela medicina popular (FERHAT et al., 2007). O *petitgrain* do *C. aurantium* é utilizado no Brasil na medicina tradicional (CARVALHO-FREITAS & COSTA, 2002). Segundo Dugo & Di Giacomo (2002),

este óleo possui maior viscosidade quando comparado aos outros óleos cítricos.

Diversas pesquisas foram realizadas com o objetivo de quantificar e identificar a composição do óleo em folhas de laranja azeda. Estes estudos revelaram os constituintes químicos mais comuns presentes nas folhas de *C. aurantium* L., encontrando concentrações variadas de linalol, de α -terpineol e acetato de linalila. (LOTA et al., 2001; BOUSSAADA & CHEMLI, 2006; AZADI et al., 2012).

Considerando o potencial de utilização dos OEs de Citros, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar as composições químicas e rendimento de óleos de *petitgrain* de sete acessos de *Citrus aurantium* L., do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura no inverno de 2011 e verão de 2012.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e amostragem do material

As laranjeiras azedas (*C. aurantium* L.) analisadas neste estudo são cultivadas no Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) localizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, no Recôncavo Baiano na cidade de Cruz das Almas/BA, a 12°40'19" de latitude Sul e 39°06'22" de longitude W.Gr. O clima é do tipo subúmido, a altitude é de 220 metros acima do nível do mar, precipitação anual média de 1.240 mm e umidade relativa do ar anual de 80%. O solo é classificado como Latossolo Amarelo Álico Coeso, de textura argilosa e relevo plano (RIBEIRO et al., 1995). A temperatura média anual é de 24,1 °C (ALMEIDA, 1999).

As laranjeiras azedas (*C. aurantium* L.) são enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck), citrumelo 'Swingle' [*C. paradisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana* V. Ten. & Pasq.) e pé franco (Tabela 1). As plantas foram multiplicadas por enxertia resultando em clones, cresceram nas mesmas condições climáticas e com tratos culturais semelhantes.

As folhas dos acessos foram coletadas na primeira semana do mês de outubro de 2011 (1ª coleta) e primeira semana de fevereiro de 2012 (2ª coleta), visando abranger o período seco e quente. Os dados climáticos foram coletados durante um mês que antecederam o semana da coleta (Gráfico 1 e 2). A temperatura variou de 16,1°C a 29,6°C e média de chuva de 3,05 mm na primeira época e 20,5°C a 32,9°C e média de chuva de 1,79 mm, respectivamente. As folhas maduras e sadias foram obtidas de todos os quadrantes da copa, de duas plantas por acesso. As amostras foram colocadas em sacos de papel, levadas a estufa com ar circulante por quatro dias a 38°C e secas até obter o peso constante.

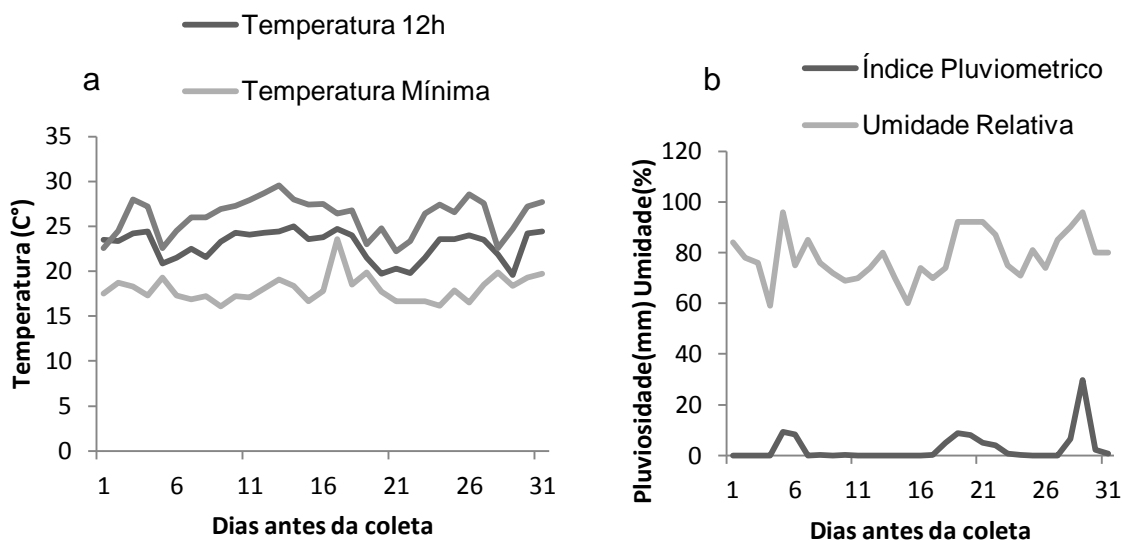


Gráfico 1. (a) Variação da temperatura (C°), (b) pluviosidade (mm) e umidade relativa do ar (%) durante os 30 dias que antecederam as coletas de folhas de *Citrus aurantium L.* nos meses de setembro e outubro de 2012.

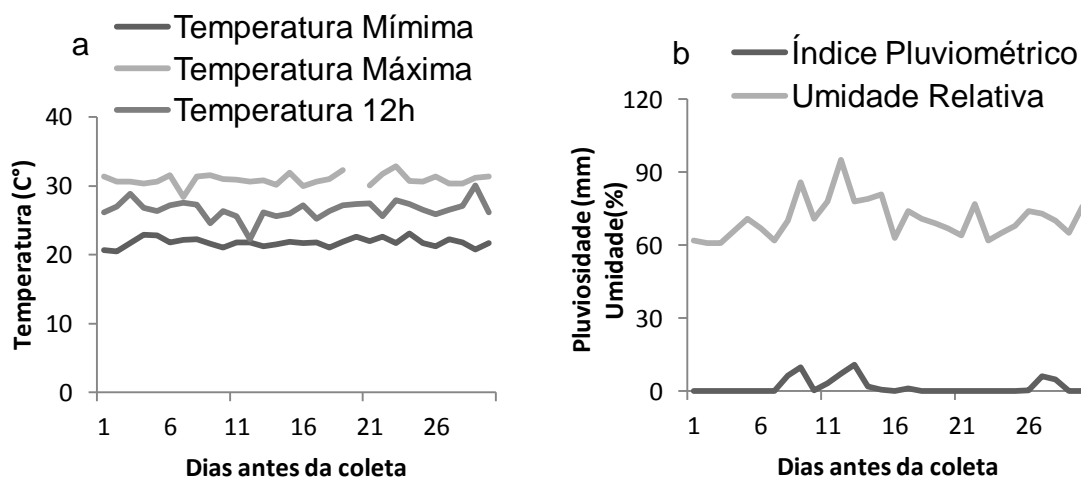


Gráfico 2. (a) Variação da temperatura (C°), (b) pluviosidade (mm) e umidade relativa do ar (%) durante os 30 dias que antecederam as coletas de folhas de *Citrus aurantium L.* nos meses de janeiro e fevereiro de 2012.

Extração do óleo essencial

A extração dos óleos essenciais de 70 g de folhas secas de cada amostra foi realizada por hidrodestilação em balão de 2 L, por cerca de 2 horas. O óleo essencial foi seco em sulfato de sódio anidro, estocado em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a +5°C. O rendimento dos óleos foram expressos em percentagem (g/100 g do material vegetal seco), calculado através da fórmula: $ROE = \frac{MOE}{MFS} \times 100$. Onde: ROE = rendimento de OE (%), MOE = massa do óleo extraído (g) e MFS = quantidade de folhas secas utilizadas na extração (g).

Análise Cromatográfica

As análises foram realizadas em um cromatógrafo Agilent 7890A equipado com um detector de ionização por chama, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida HP-5 MS (5%-fenil-95%-metilsilicone, 30 m de comprimento X 0,25 mm de diâmetro interno X 0,25 µm de espessura do filme). Utilizou-se hidrogênio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250°C e 280°C,

respectivamente. A temperatura do forno variou de 60°C a 240°C/min, a uma taxa de 3°C/min. As amostras de óleo essencial foram diluídas em diclorometano (1% V/V), e injetou-se 1,0 µL de cada, no modo com divisão de fluxo (1:20). Para a quantificação utilizou-se normalização de área (área %).

Os espectros de massas foram obtidos em um sistema Agilent 5973N acoplado a um cromatógrafo Agilent 6890, empregando a mesma coluna cromatográfica, nas mesmas condições acima, exceto o gás de arraste, tendo-se utilizado hélio (1,0 mL/min). Utilizou-se ionização eletrônica a 70eV. A fonte de ionização foi mantida a 220°C, o analisador (quadrupolo) a 150°C e a linha de transferência a 260°C. A taxa de aquisição de dados foi de 3,15 varreduras/s (scans/s), na faixa de 40 a 500 Da.

Os índices de retenção lineares foram calculados a partir dos tempos de retenção dos componentes dos óleos essenciais e aqueles de uma série homóloga de n-alcenos injetados na mesma coluna e com as mesmas condições de análise acima (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963).

Os genótipos BGC08 e BGC14 foram quantificados apenas na primeira época de coleta, a porcentagem de compostos não foi obtida nos dados cromatográficos da segunda época de coleta.

Identificação dos compostos

Para a identificação dos componentes dos óleos essenciais seus espectros de massas foram comparados com dados da espectroteca Wiley 6th edition e também por verificação de seus índices de retenção linear com dados da literatura (ADAMS, 2007). Um componente foi considerado identificado quanto tanto o espectro de massas quanto o índice de retenção foram compatíveis com valores publicados.

Análise Estatística

Inicialmente, foi realizada o somatório de cada constituinte, onde aqueles com valores superiores a 10 foram considerados para Análise de Componentes Principais utilizando o método de fatorização *HJ-simetric* Galindo (1986), de forma a medir o inter-relacionamento entre os acessos e os

constituintes. O programa R, de domínio público, foi utilizado para desenvolver as análises estatísticas (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve variação no teor do óleo essencial entre os acessos avaliados e também nas épocas de coleta. O teor do OE variou de 0,07% (BGC08) a 1,06% (BGC11), ambos na segunda época de coleta. Os acessos BGC09, BGC11 e BGC12 apresentaram um aumento no teor de OE extraído no verão, enquanto para BGC08 e BGC14 o inverno foi favorável à produção de óleo essencial. Nos genótipos BGC10 e BGC15, o teor de OE quase não variou entre as épocas de coleta (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de acessos de laranjeira azeda (*Citrus aurantium* L.), denominação, porta-enxerto, procedência e porcentagem de óleo essencial em folhas colhidas em duas épocas¹ no Banco de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Acessos	Nome Comum	Porta-enxerto	Procedência	% Óleo Essencial	
				1ª Época	2ª Época
BGC08	'Azeda Gou Tou Chen'	Limoeiro 'Cravo'	Flórida	0,15	0,07
BGC09	'Azeda Comum'	Limoeiro 'Volkameriano'	CNPMF	0,29	0,41
BGC10	'Azeda Double Calice'	Limoeiro 'Volkameriano'	CCSM	0,35	0,32
BGC011	'Azeda Narrow Leaf'	Limoeiro 'Volkameriano'	IVIA	0,30	1,06
BGC12	'Azeda sem espinho'	Citrumelo 'Swingle'	IVIA	0,34	0,66
BGC14	'Azeda Sour Orange'	Limoeiro 'Cravo'	-	0,64	0,34
BGC15	'Azeda Zhuluan'	Pé-franco	China	0,45	0,46

¹ As épocas de coleta foram definidas como 1=Setembro/2011 e 2=Fevereiro/2012

Experimentos com folhas de laranjeira azeda durante as estações do ano, realizados por Ellouze et al. (2012), mostram a variação do rendimento entre os meses de abril, julho e setembro de 2008 foram 0,34%, 0,41% e 0,43%, respectivamente. Lota et al. (2001), encontrou no período de dezembro a abril concentrações de 0,3% a 0,5% e 0,19% entre abril e novembro por Azadi et al. (2012).

Foram identificados 54 compostos, variando de 32 (BCG08-1^a época) a 15 (BCG09, na segunda época), representando 80,3% (BGC08) a 99,9% (BGC15) do total de óleo analisado (Tabela 2).

Foi realizado o somatório dos teores de cada composto químico identificado nos acessos *C. aurantium*, identificando aqueles com maior representatividade nas amostras. A linha vertical identifica os compostos com somatórios das concentrações acima de 5, sendo linalol (420,2%) alcançando 48,9% nos acessos BGC12 e 14, acetato de linalila (263,4%) com 33,8% no BGC10, α -terpineol (82,9%) com 10,8% no BGC14, β -pineno (82,5%) com chegando a 46% no BGC15, os mais representativos seguidos por *N*-metil-antranilato de metila (34,8%), limoneno (25,8%), acetato de nerila (23,6%), (*E*)- β -cariofileno (13,1%), nerol (10,9%), óxido de cariofileno (7,2%), α -terpinoleno (7,1%) nerolidol (6,4%) e outros (Figura 1).

Os compostos com maior representatividade encontrados nas duas épocas foram linalol, que na análise da primeira coleta variou de 6,6% (BGC08) a 48,9% (BGC12 e BGC14), variando, também, na segunda coleta de 23,3% (BGC15) a 45,7% (BGC12), estando presente em todas as amostras estudadas. O acetato de linalila apresentou na primeira coleta 0,4% (BGC15) a 30,2% (BGC10) e 0,0% (BGC15) a 33,8% (BGC10) na segunda coleta. O acesso BGC15 se diferenciou dos demais com a ausência de acetato de linalila e a presença de β -pineno que aparece com 46% na primeira e 31,3% na segunda coleta. O composto *N*-metil-antranilato de metila foi encontrado em quantidade expressiva no BGC11 com 30,9% na segunda época de coleta, sendo praticamente ausente nos demais acessos. O composto α -terpineol variou na primeira coleta de 0,3% (BGC08) a 10,8% (BGC14) e 1,2% (BGC15) a 10,5 (BGC09) na segunda coleta (Tabela 2).

Os resultados são similares aos encontrados por Ellouze et al. (2012), que verificaram o impacto da estação do ano na composição do óleo essencial

de *Citrus aurantium* L., encontrando variações de linalol (43,2%-65,97), acetato de linalila (0,77%-24,77%) e α -terpineol (9,29%-12,12%), considerando os meses de julho e setembro (verão, no hemisfério norte) como a melhor época de coleta, concluindo também que a variação sazonal influenciou na composição do OE de *Citrus aurantium* L.. Este trabalho também é similar aos resultados encontrados por Lota et al., (2001), que encontraram linalol (1,0%-37,7%), acetato de linalila (0-36,8%), α -terpineol (0,3%-11,8%) e β -pineno (2,1%-36,7%). Azadi et al. (2012), também citam a presença de linalol e acetato de linalina nas folhas de laranjeiras azedas em concentrações de 39,4% e 38,8%, respectivamente. O linalol foi encontrado em maiores quantidades que os relatados nos acessos BGC09, 12, 11, e 14, enquanto os outros se equipararam aos da literatura citada.

O perfil químico dos óleos investigados foi bastante semelhante em todas as espécies, sendo que os compostos mirceno, (*E*)- β -ocimeno, α -terpinoleno, linalol, α -terpineol e acetato de geranila estão presentes nas duas épocas de coleta em todos os acessos, acetato de linalila, (*Z*)- β -ocimeno e acetato nerila estão ausentes apenas na segunda época no BGC 015, enquanto o (*E*)- β -cariofileno apenas na primeira época do BGC14. Outros compostos também estão presentes na maioria dos acessos, como limoneno, nerol e espatulenol. O *N*-metil-antranilato de metila se destaca no BGC11 segunda época com 30,9%, diferente dos outros que variaram de 0,7% a 1,2% apenas.

Tabela 2. Porcentagem relativa dos constituintes químicos do óleo essencial em folhas dos acessos de laranjeira azeda do BAG Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura em duas épocas de coleta¹.

IRL	Citrus aurantium L, Componente	Acessos												
		BGC 009		BGC 012		BGC 015		BGC 010		BGC 011		BGC 008		BGC 014
		Épocas												
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
928	α-tujeno					0,6	0,3					0,2		
936	α-pineno			0,1		3,5	2,2	0,1			0,3	1,0	0,1	
951	sabineno			1,2		0,2	4,2	1,1		0,9				
978	β-pineno			0,4		46	31,3				0,8	3,1	0,9	
990	mirreno	1,3	0,5	1,2	1,2	1,1	0,8	1,4	0,8	1,3	0,8	0,7	1,8	
1004	α-felandreno					0,1								
1013	δ-3-careno						3,2							
1017	α-terpineno											0,2		
1026	p-cimeno					7,8	3,5				0,9	12,4		
1030	limoneno	0,4		0,4	0,4	6,9	5,2	8,5	0,5	0,5	2,5		0,5	
1035	1,8-cineol						1,2							
1038	(Z)-β-ocimeno	0,5	0,4	0,2	0,5	0,2		0,2	0,4	0,3	0,4	0,1	0,6	
1049	(E)-β-ocimeno	1,1	0,8	0,2	1,1	4,3	5,4	0,2	0,9	0,5	0,8	1,2	1,3	
1059	γ-terpineno					2,6	4,6					23,1		
1067	trans-hidrato,sabineno					0,3						0,2		
1072	óxido,linalol	0,4		0,6		0,5	0,6	0,4		0,3		0,2	0,2	
1088	α-terpinoleno	0,4	0,3	0,3	0,4	0,8	1,3	0,2	0,3	0,2	0,4	2,0	0,3	
1098	linalol	44,1	43,5	48,9	45,7	8,2	23,3	38,3	40	45	27,8	6,6	48,9	
1139	1-terpineol					0,3						0,2		
1145	cis-β-terpineol					0,2						0,5		
1156	citronelal					0,6	0,4	0,2				0,8		
1175	terpinen-4-ol	0,1		0,1		0,5	1,0	0,2		0,1	0,2	0,3	0,1	
1183	p-cimen-8-ol					0,2								
1188	α-terpineol	9,5	10,5	8,4	9,5	0,5	1,2	7,0	8,9	9,5	6,8	0,3	10,8	
1205	cis-piperitol						0,1							
1226	citronelol	1,9												
1232	nerol		1,1	1,6	0,5	0,2		1,8	0,8	1,9	0,6	0,4	2,1	
1233	timil-metil-éter											0,3		
1245	neral				0,4		0,5		0,9					
1256	acetato,linalila	28,2	30,4	26,4	29,9	0,4		30,2	33,8	28,3	17	15,1	23,8	
1259	geraniol										0,2			
1352	acetato,citronelila					0,2						0,2		
1368	acetato,nerila	2,8	2,7	2,5	2,5	0,3		2,6	2,8	2,8	1,7	0,2	2,8	
1273	geranial		0,5		0,4		0,7		0,4					
1386	acetato,geranila	5,3	5,3	4,9	4,8	0,8		4,2	4,9	5,3	3,3	0,1	5,4	
1412	N-metil-antranilato,metila		1,2		0,7		1,1		0,9		30,9			
1414	(E)-β-cariofileno	0,8	0,6	0,7	0,6	2,0	4,1	0,6	0,9	0,8	0,6	1,4		
1447	α-humuleno	0,1		0,1		0,3	0,5			0,2		0,2		
1489	biciclogermacreno	0,4	0,3		0,3		0,3		0,4	0,2			0,1	
1517	δ-cadinero					0,1						0,8		
1544	elemol					0,2								
1560	nerolidol	0,2		0,3		1,4	1,5	0,2		0,2		2,7		
1569	espatulenol	0,4	0,5	0,4	0,3		0,7	0,2	0,5	0,4		3,5		
1574	óxido,carofileno	0,3		0,4		3	0,7	0,7		0,4		1,8		
1599	epóxido,humulenoll					0,2						0,2		
1633	eπi-α-muurolol	0,5										0,3		
	Total	98,7	98,7	99,2	99,2	94,3	99,9	98,2	98,3	99,2	95,9	80,3	99,5	

¹ As épocas de coleta foram definidas como 1=Outubro/2011 e 2=Fevereiro/2012

² Índice de Retenção Linear (Kovats)

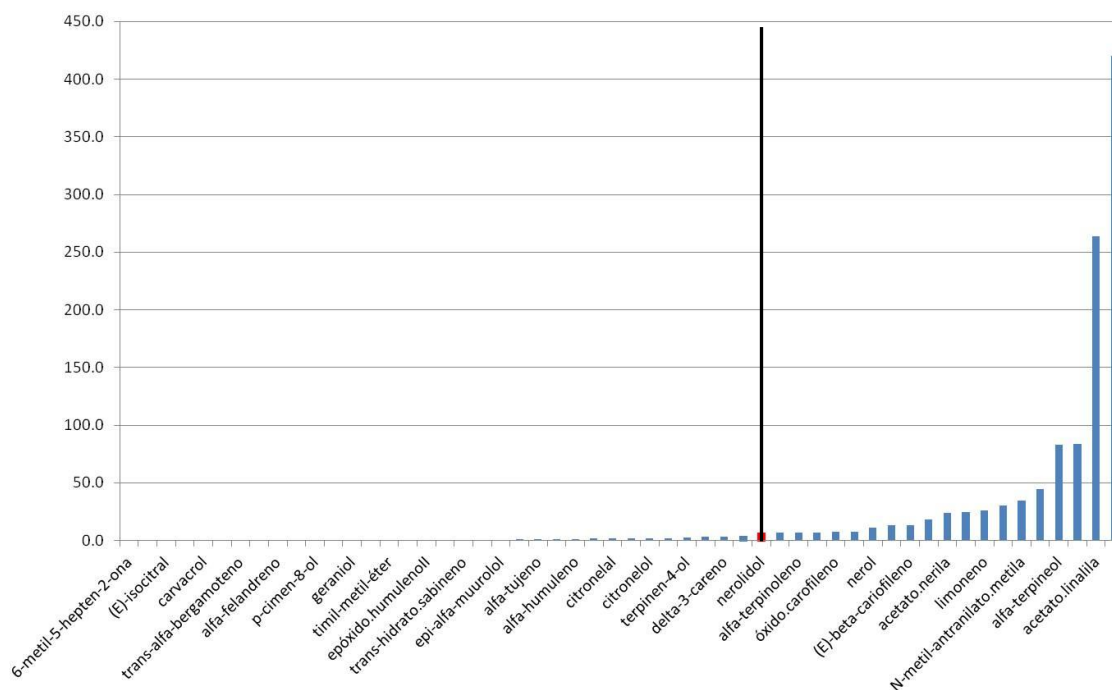


Figura 1. Soma dos valores de cada constituinte químico do óleo essencial dos acessos de *Citrus aurantium* L. O ponto em vermelho representa a separação dos compostos com somatório superior a 5, para Análise de Componentes Principais Biplot.

A Análise de Componentes Principais revelou a formação de dois eixos ou componentes, o PC1 explicando 71,91% da variação existente nos acessos e o PC2 com 15% da variação, num total de 86,94% (Figura 2). Um grupo (PC1) formado por todos os acessos, exceto BGC08 e BGC15, se agrupam pelo peso dos constituintes químicos do óleo essencial na separação dos Componentes Principais, sendo os compostos linalol (10,29) e acetato de linalila (6,13) os que mais discriminaram em ambas as épocas de coleta (Tabela 3). Este agrupamento evidencia que não há grande alteração na composição química destes acessos quando coletados em diferentes épocas, possibilitando a colheita de folhas em épocas distintas e com bouquet semelhante, caso seja de interesse a coleta de folhas destes materiais para a indústria de perfumaria. O outro grupo (PC2) foi formado apenas pelo BGC15, com alta concentração de β -pineno .

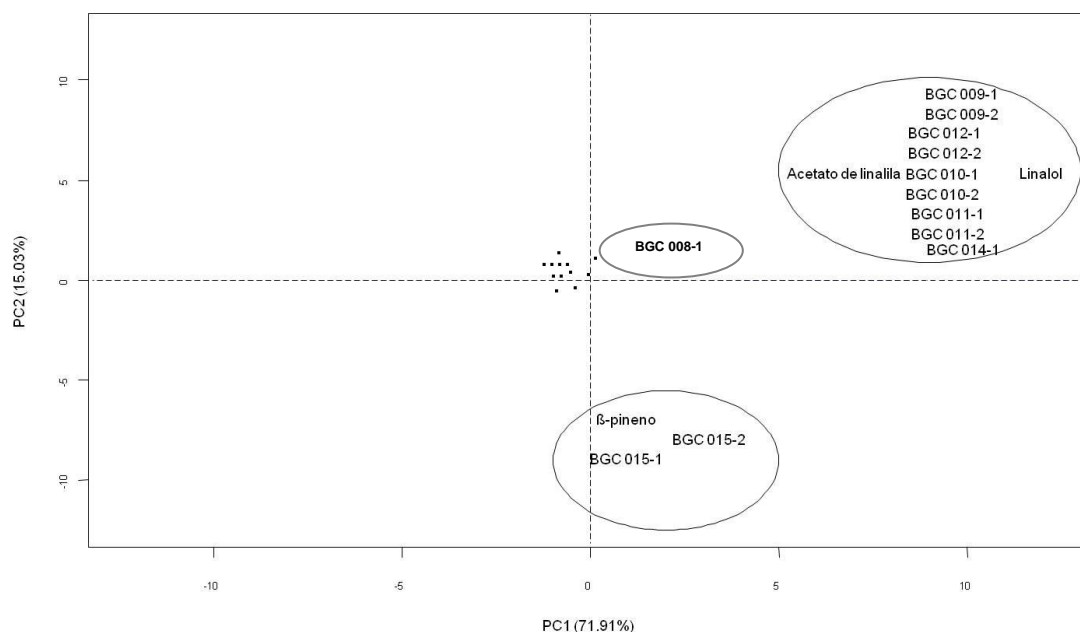


Figura 2. Análise dos Componentes Principais Biplot dos constituintes químicos dos óleos essenciais de folhas de acessos de *Citrus aurantium* L. do Banco de Germoplasma de Citros (BCG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura coletadas em duas épocas distintas.

Tabela 3. Peso dos constituintes químicos do óleo essencial na separação dos Componentes Principais.

Compostos	PC1	PC2
α -pineno	-1,3493575	0,13260191
sabineno	-1,2569152	0,21293417
β -pineno	-0,7190577	-5,34916115
mirceno	-1,0945974	0,44800441
p-cimeno	-1,1245136	-0,30068498
limoneno	-0,9129627	-0,29955504
(E)- β -ocimeno	-1,1080173	-0,17177675
γ -terpineno	-0,954521	-0,04059388
α -terpinoleno	-1,2855369	0,40725171
linalol	10,288195	-0,84296348
α -terpineol	0,970672	0,67660551
nerol	-1,1102324	0,58001803
acetato linalila	6,1345545	1,29866369
acetato nerila	-0,7375881	0,61541851
acetato geranila	-0,1477257	0,63920065
N-metil-antranilato.metila	-0,5075839	0,75021525
(E)- β -cariofileno	-1,1644862	0,10077014
nerolidol	-1,3243575	0,33862739
espatulenol	-1,2723734	0,51110141
óxido carofileno	-1,323595	0,29332252

O genótipo BGC08 não formou grupo, ficando de forma intermediária localizado entre os demais. Este acesso apresentou compostos não presentes na maioria dos acessos estudados, como γ -terpineno (23,1%) e p-cimeno (12,4%), além de acetato de linalila (15,1%) e linalol (6,6%). Acetato de linalila, linalol e β -pineno foram encontrados nas folhas de cinco laranjeiras azedas da Itália por De Pasquale et al. (2006).

A partir da formação de um único grupo pela maioria dos acessos no verão e inverno pode-se inferir que as plantas possuem composição de óleo essencial bastante homogênea, o que fornece dados importantes para definir a época de coleta que os compostos de interesse comercial podem ser extraídos. Segundo Mohamed et al. (2005), esta espécie é tolerante a condições adversas, como ao frio, ao excesso de água e a algumas doenças, o que levou ao uso destas como porta-enxerto antes do surgimento do vírus da Tristeza do Citros (LOTA et al., 2001).

O acesso BGC15, apresentou comportamento similar aos outros genótipos quanto ao número de compostos identificados, porém a presença de β -pineno no verão e inverno (46%-31,3%) e linalol, acetato de linalila e α -pineno em menores quantidades o diferenciou dos demais. Lota et al. (2001) observaram variações deste composto em alguns acessos de *C. aurantium* L., que se diferenciaram dos demais devido a presença de sabineno, (*E*)- β -ocimeno e β -pineno e linalol.

Todos os compostos majoritários observados nos acessos de *C. aurantium* L. são largamente requeridos pela indústria. O linalol é bastante utilizado em perfumaria, na produção de cosméticos e produtos de limpeza (SIDS, 2002), enquanto o acetato de linalila é utilizado como produto químico em produtos aromáticos (SKÖLD et al., 2008) e o α -terpineol usado como constituinte de sabonetes e cosméticos, como repelente de insetos, produtos de limpeza, como antifúngico e antiséptico (BAPTISTELLA et al., 2009).

CONCLUSÕES

O teor de OE das folhas de *C. aurantium* variou nas épocas avaliadas, sendo mais expressivo no genótipo BGC011 na segunda coleta. No perfil químico identificado se destacam o linalol e acetato de linalila como majoritários na

maioria dos acessos. O agrupamento evidencia que mesmo coletadas em épocas diferentes houve pouca mudança na composição química dos acessos utilizados.

Alguns acessos se comportaram de maneira diferente (BGC 008-BGC 015), apresentando concentração de compostos incomuns aos demais avaliados, como presença de β -pineno e γ -terpineno respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. New York: **Allured Publishing**, 2007, 804p.

ALMEIDA, O. A. Informações meteorológicas do CNP. **Documentos**, **34**. Embrapa. Cruz das Almas. 35 p. 1999.

AZADI, B.; NICKAVAR, B.; AMIN, G. Volatile constituents of the peel and leaf of *Citrus aurantium* L. cultivated in the north of Iran. **Journal of Pharmaceutical and Health Sciences**, v.1, n. 3, p. 37-41, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BAPTISTELLA, L. H. B.; IMAMURA, P. M.; MELO, L. V.; CASTELLO, C. Preparação do (+)- α -terpineol a partir do (+)-limoneno: monoterpenos de odor agradável em um Projeto Para química orgânica experimental. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1069-1071, 2009.

BEZERRA, A. M. E.; MEDEIROS-FILHO, S.; OLIVEIRA, L. D. M.; SILVEIRA, E. R. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 26-29, 2008.

BOUSSAADA, O.; CHEMLI, R. Chemical composition of essential oil from flowers, leaves and peel of *Citrus aurantium* L. from Tunisia. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 9, n. 2, p. 133-139, 2006.

CARVALHO-FREITAS, M. I. R.; COSTA, M. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n. 12, p. 1629-1633, 2002.

CUNHA SOBRINHO, A. P.; MAGALHÃES, A. F. J.; NASCIMENTO, A. S.; SANTOS FILHO, H. P.; SOUZA, L. D.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. S.; COELHO, Y. S. Cultivo dos Citros. **Circular Técnica 26**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 43 p.1996.

DE PASQUALE, F.; SIRAGUSA, M.; ABBATE, L.; TUSA, N.; DE PASQUALE, C.; ALONZO, G. Characterization of five sour orange clones through molecular markers and leaf essential oils analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 109, p. 54–59, 2006.

DUGO, G.; DI GIACOMO, A. **Citrus, The genus Citrus**. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. v. 26, p. 1-15, 2002.

ELLOUZE, I.; ABDERRABBA, M.; SABAOU, N.; MATHIEU, F.; LEBRIHI, A.; BOUJILA, J. Season's variation impact on *Citrus aurantium* leaves essential oil: Chemical composition and biological activities. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, 2012.

FERHAT, M. A.; MEKLATI, B. Y.; CHEMAT, F. Comparison of different isolation methods of essential oil from *Citrus* fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 494–504, 2007.

FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 112–113, 2010.

GALINDO, M. P. Una alternativa de representacion simultanea: HJ-Biplot. **Questio**, v. 10, n. 1, p. 13-23, 1986.

GAZIM, Z. C.; AMORIM, A. C. L.; HOVEL, A. M. C.; REZNDE, C. M.; NASCIMENTO, I. A.; FERREIRA, G. A.; CORTEZ, D. A. G. Seasonal variation, chemical composition and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd. in southern Brazil. **Molecules**, v. 15, p. 5509–5524, 2010.

KAMAL, G. M.; ANWAR, F.; HUSSAIN, A. I.; SARRI, N.; ASHRAF, M. Y. Yield and chemical composition of *Citrus* essential oils as affected by drying pretreatment of peels. **International Food Research Journal**, v.18, n. 4, p. 1275-1282, 2011.

KIM, J. A.; PARK, H. S.; KANG, S. R.; PARK, K. I.; LEE, D. H., NAGAPPAN, A.; SHIN, S. C., LEE, W. S.; KIM, E. H.; KIM, G. S. Suppressive Effect of Flavonoids from Korean *Citrus aurantium* L. on the Expression of Inflammatory Mediators in L6 Skeletal Muscle Cells. **Phytotherapy Research**., v. 26, n. 12, p. 1904-12, 2012.

PARK, H. S.; KANG, S. R.; PARK, K. I.; LEE, D. H., NAGAPPAN, A.; SHIN, S. C., LEE, W. S.; KIM, E. H.; KIM, G. S. Suppressive Effect of Flavonoids from Korean *Citrus aurantium* L. on the Expression of Inflammatory Mediators in L6 Skeletal Muscle Cells. **Phytother Res**. v. 26, n. 12, p. 1904-12, 2012.

LOTA, M-L.; SERRA, D. R.; JACQUEMOND, C.; TOMI, F.; CASANOVA J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange. **Flavour and Fragrance Journal**, v.16, 89–96, 2001.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MOHAMED, L. A.; KOUHILA, M.; JAMALI, A.; LAHSASNI, S.; KECHAOU, N.; MAHROUZ, M. Single layer solar drying behaviour of *Citrus aurantium* leaves under forced convection. **Energy Conversion and Management**, v. 46, p. 1473–1483, 2005.

MONDELLO, L.; DUGO, G.; DUGO, P.; BARTLE, K. D. Italian *Citrus petitgrain* oils. Part I. Composition of bitter orange *petitgrain* oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 6, p. 597-609, 1996.

NUNES, P. M. P.; SMOLAREK, F. S. F.; KAMINSKI, G. A. T.; FIN, M. T.; ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. A importância do aproveitamento dos resíduos industriais da semente de *Citrus*. **Visão Acadêmica**, v.10, n.1, 2009.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

RIBEIRO, L. P.; SANTOS, D. M. B.; LIMA NETO, I. de A.; BARBOSA, M. F.; CUNHA, T. J. F. Levantamento detalhado dos solos, capacidade de uso e classificação de terras para irrigação da estação de Plasticultura da Universidade Federal da Bahia/Politeno em Cruz das Almas (BA). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, n. 1, p. 105-113, 1995.

SIDS, Initial Assessment Report: Linalool. 2002. Disponível em: <www.inchem.org/documents/sids/sids/78706.pdf> Acesso em: 22 de Janeiro 2013.

SKÖLD, M.; HAGVALL, L.; Ann-Therese KARLBERG, A.-T. Autoxidation of linalyl acetate, the main component of lavender oil, creates potent contact allergens. **Contact Dermatitis**, v. 58, ed1, p. 9–14, 2008.

SURYAWANSHI, J. A. S. An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 7, p. 390-395, 2011.

UNSD, United Nations Statistics Division. **Statistics**. 2011. Disponível em: <http://data.un.org/Data.aspx?d=ComTrade&f=_I1Code%3a34>, acesso em 30 de janeiro de 2013.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalisation of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, 463-471, 1963.

WANG, J. J.; TSAIA, J. H.; DING, W.; Zhi-Mo ZHAO, Z-M.; LI, L-S. Toxic effects of six plant oils alone and in combination with controlled atmosphere on *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelididae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 5, p. 1296-1301, 2001.

CAPÍTULO 2

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE MEXERIQUEIRA (*Citrus deliciosa* Tenore)

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE MEXERIQUEIRA (*Citrus deliciosa* Tenore)

Autor: Lucas Aragão da Hora Almeida

Orientador: Roberto Fontes Vieira

Co-orientador: Walter dos Santos Soares Filho

RESUMO: As folhas de oito acessos de mexeriqueira foram analisadas quanto à caracterização química dos óleos essenciais. Considerando o potencial de utilização dos OEs de citros, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar as composições químicas de óleos de *petitgrain* de oito acessos de *Citrus deliciosa* Tenore do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Amostras de folhas coletadas no verão de 2012, secas e extraídas por hidrodestilação e a identificação dos compostos realizada por cromatografia gasosa (CG/FID e CG/MS). Entre os compostos majoritários no *petitgrain* de mexeriqueiras se destacam *N*-metil-antranilato de metila (60,4%-84,6%), γ -terpineno (6,1%-19,6%) e limoneno (2,7%-10,2%). Os acessos avaliados mostraram a diversidade de compostos que podem ser obtidos do óleo *petitgrain*, apresentando portanto, potencial para utilização a nível comercial.

Palavras-chave: *Citrus deliciosa*, recursos genéticos vegetais, *petitgrain*.

YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL IN LEAVES OF NINE ACCESSIONS OF MANDARINS (*Citrus deliciosa* Tenore)

Author: Lucas Aragão da Hora Almeida

Avisor: Roberto Fontes Vieira

Co-visor: Walter dos Santos Soares Filho

ABSTRACT: The leaves of eight accessions of mandarins were analyzed for chemical characterization of essential oils. Considering the potential use of *Citrus* essential oils, the objective of this study was to characterize the chemical composition of *petitgrain* essential oil of eight accessions of *Citrus deliciosa* Tenore from the Germplasm Bank of Embrapa Cassava and Fruit. Leaf samples

were harvested in the summer 2012, dried and the essential oil was obtained by hidrodistillation and chemical constituents quantified and identified by gas chromatography (GC/FID, GC/MS). Among the major compounds found in the *petitigrain* of mandarins accessions, the following can be highlighted: methyl *N*-methylantranilate (60.4%-84.6%), γ -terpinene (6.1%-19.6%) and limonene (2.7%-10.2%). The accessions showed a large diversity of compounds obtained in *petitigrain* essential oil, showing potential importance for commercial use.

Keywords: *Citrus deliciosa*, plant genetic resources, *petitigrain*.

INTRODUÇÃO

As mexeriqueiras (*Citrus deliciosa* Tenore) são cultivadas principalmente na região sul do Brasil, onde representam um importante papel social como recurso econômico de pequenos produtores (FRIZZO et al., 2004). O grupo das mexericas é composto por grande variabilidade de frutas, utilizadas *in natura* e na indústria de suco, sendo o mercado de frutas frescas predominante (FANCIULLINO et al., 2006). O óleo essencial (OE) de folhas e frutos de *Citrus* é um valioso produto, aplicado principalmente em indústria de perfumaria e alimentos, pelo seu odor bem apreciado (DUGO et al., 2011). O conjuntos destes compostos resultantes do metabolismo secundário são chamados óleos essenciais devido à sua natureza líquida à temperatura ambiente (BASER, 1995).

As mexeriqueiras são classificadas, segundo Tanaka (1961), em uma espécie. Embora a composição química dos frutos e folhas de citros tenham sido relatados em trabalhos científicos, pouco ajudam na identificação taxonômica (LAWRENCE, 2001), porém tais informações são importantes para o desenvolvimento de programas de conservação e na caracterização de coleções nucleares.

As plantas cítricas possuem OE na casca dos frutos, nas flores, e nas folhas, sendo conhecidos como “óleo de laranja”, *neroli* e *petitigrain*, respectivamente (DUGO & DI GIACOMO, 2002), compostos por hidrocarbonetos como os de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, e compostos oxigenados (SOUZA et al., 2010). Dentre os compostos majoritários dos óleos essenciais encontrados em folhas de mexeriqueira estão o sabineno, γ -terpineno,

linalol, *N*-metil-antranilato de metila e limoneno, entre outros em baixas concentrações (LOTA et al., 2001), que em geral são utilizados por indústrias alimentícias, cosméticos, perfumaria e como coadjuvantes em medicamentos (BIZZO, 2009).

Considerando o potencial de utilização dos OEs de citros, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar quimicamente os óleos essenciais de folhas de nove cultivares de mexeriqueiras (*Citrus deliciosa* Tenore), do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e amostragem do material

As mexericas (*C. deliciosa* Ten.) analisadas neste estudo são cultivadas no Banco de Germoplasma *in vivo* da Embrapa Mandioca e Fruticultura (BAG Citros), localizado no recôncavo baiano na cidade de Cruz das Almas-BA, a 12°40'19" de latitude Sul e 39°06'22" de longitude W.Gr. O clima é do tipo subúmido, a altitude é de 220 metros acima do nível do mar, precipitação anual média de 1.240 mm e umidade relativa do ar anual de 80%. O solo é classificado como Latossolo Amarelo Álico Coeso, de textura argilosa e relevo plano (RIBEIRO et al., 1995). A temperatura média anual é de 24,1 °C (ALMEIDA, 1999).

As variedades estudadas foram enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck), tangerineira Cleópatra (*C. reshni* Hort ex Tanaka) e limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana* V. Ten. & Pasq.) (Tabela 1). As plantas foram multiplicadas por enxertia gerando clones e cresceram nas mesmas condições climáticas e com tratamentos culturais semelhantes.

As folhas dos acessos foram coletadas na terceira semana de fevereiro de 2012, visando abranger o período úmido e quente. Os dados climáticos foram coletados durante dois meses que antecederam a semana da coleta (Gráfico 1). A temperatura variou de 20,5°C a 32,9°C e média de chuva de 1,79 mm. As folhas maduras e sadias foram obtidas de todos os quadrantes da copa, de duas plantas por acesso. As amostras foram colocadas em sacos de papel, levadas a estufa com ar circulante por quatro dias a 38°C e secas até obter o peso constante.

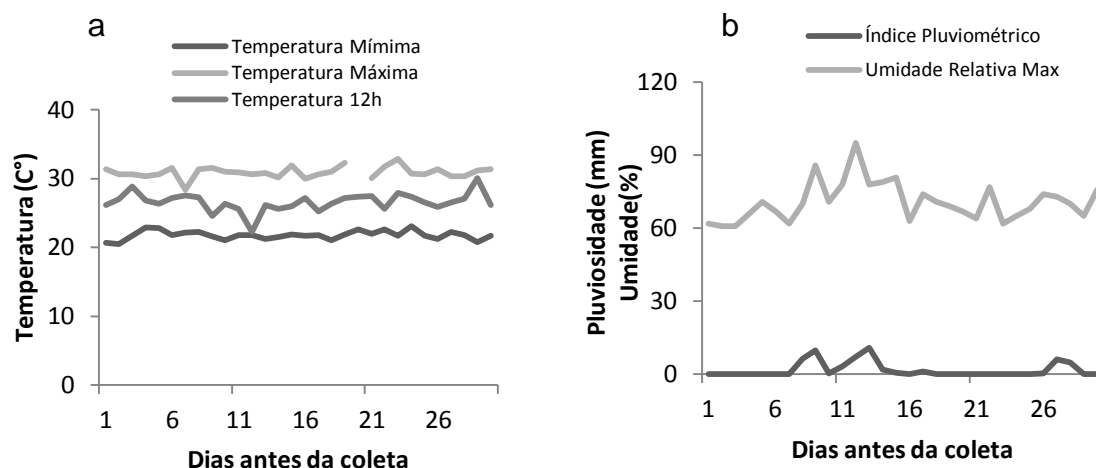


Gráfico 1. (a) Variação da temperatura (C°), (b) pluviosidade (mm) e umidade relativa do ar (%) durante os 30 dias que antecederam as coletas de acessos de *Citrus delicosa* Tenore.

Extração do óleo essencial

A extração dos óleos essenciais de 70 g de folhas secas de cada amostra foi realizada por hidrodestilação em balão de 2 L, por 2 horas. O óleo essencial foi seco em sulfato de sódio anidro, estocados em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a +5 °C. O rendimento dos óleos foram expressos em porcentagem (g/100 g do material vegetal seco), calculado através da fórmula: $ROE = MOE (g) \times 100 / MFS (g)$. Onde: ROE = rendimento de OE (%), MOE = massa do óleo extraído (g) e MFS = quantidade de folhas secas utilizadas na extração (g).

Análise Cromatográfica

As análises foram realizadas em um cromatógrafo Agilent 7890A equipado com um detector de ionização por chama, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida HP-5 MS (5%-fenil-95%-metilsilicone, 30 m de comprimento X 0,25 mm de diâmetro interno X 0,25 µm de espessura do filme). Utilizou-se hidrogênio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250°C e 280°C, respectivamente. A temperatura do forno variou de 60°C a 240°C/min, a uma taxa de 3°C/min. As amostras de óleo

essencial foram diluídas em diclorometano (1% V/V), e injetou-se 1,0 µL de cada no modo com divisão de fluxo (1:20). Para a quantificação utilizou-se normalização de área (área %).

Os espectros de massas foram obtidos em um sistema Agilent 5973N acoplado a um cromatógrafo Agilent 6890, empregando a mesma coluna cromatográfica, nas mesmas condições acima, exceto o gás de arraste, tendo-se utilizado hélio (1,0 mL/min). Utilizou-se ionização eletrônica a 70eV. A fonte de ionização foi mantida a 220°C, o analisador (quadrupolo) a 150°C e a linha de transferência a 260°C. A taxa de aquisição de dados foi de 3,15 varreduras/s (scans/s), na faixa de 40 a 500 Da.

Os índices de retenção lineares foram calculados a partir dos tempos de retenção dos componentes dos óleos essenciais e aqueles de uma série homóloga de n-alcanos injetados na mesma coluna e com as mesmas condições de análise acima (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963).

Identificação dos compostos

Para a identificação dos componentes dos óleos essenciais seus espectros de massas foram comparados com dados da espectroteca Wiley 6th edition e também por verificação de seus índices de retenção linear com dados da literatura (ADAMS, 2007). Um componente foi considerado identificado quando tanto o espectro de massas quanto o índice de retenção foram compatíveis com valores publicados.

Análise Estatística

Inicialmente, foi realizado o somatório de cada constituinte, onde aqueles com valores superiores a 10 foram considerado para Análise de Componentes Principais utilizando o método de fatorização *HJ-simetric* Galindo (1986), de forma a medir o inter-relacionamento entre os acessos e os constituintes. O programa R, de domínio público, foi utilizado para desenvolver as análises estatísticas (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial encontrado nas folhas dos acessos de *C. deliciosa* apresentaram teores variando entre 0,15% (BCG32) a 1,48% (BCG45) (Tabela 1). Entre os acessos, aqueles com maior teor do OE foram BCG 41, 44, e 45, seguidos pelo 33, 43 e 40. Os acessos BGC 32 e 35 obtiveram teores de OE inferiores aos demais, porém dentro dos limites citados na literatura. Foram observados o teor de óleo essencial em folhas de *C. deliciosa* variando de 0,05% à 0,60% (LOTA et al., 2001). Em extrações de OE realizados em folhas de *Citrus reticulata* Blanco e *Citrus medica* L. foram encontrados rendimentos variando entre 0,10% a 0,45% (LOTA et al., 2000) e 0,14% a 0,36% (VENTURINI et al., 2010), respectivamente.

Tabela 1. Relação de acessos de Mexeriqueira (*Citrus deliciosa* Ten.), denominação, procedência e porcentagem de óleo essencial em folhas colhidas no Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Acessos	Denominação	Porta-enxerto	Procedência	Teor de OE
BGC32	'Big of Sicily'	Limoeiro 'Cravo'	Mediterrâneo	0,15
BGC33	'Mexeriqueira Comum'	Limoeiro 'Cravo'	Mediterrâneo	0,94
BGC35	'Giant of Sicily'	Limoeiro 'Cravo'	Mediterrâneo	0,36
BGC40	'Precoce'	Limoeiro 'Cravo'	Mediterrâneo	0,58
BGC41	'Romana'	Limoeiro 'Cravo'	Mediterrâneo	1,11
BGC43	'Tetraploide 1585'	Tangerineira 'Cleópatra'	EUA	0,74
BGC44	'Tuá'	Tangerineira 'Cleópatra'	Brasil	1,34
BGC45	'Willow Leaf'	Limoeiro 'Cravo'		1,48

Considerando o que é mencionado na literatura, os teores de OE encontrados no acesso BCG45 são acima dos valores observados, tendo potencial econômico caso seu perfil químico seja de interesse.

Na análise dos constituintes químicos do óleo essencial em folhas dos acessos de mexeriqueira, foram encontrados um total de 21 compostos, variando de 13 (BCG35, 43 e 44) a 20 (BCG 32) compostos responsáveis por 94,8% (BGC43) a 100% (BGC35) do total de óleo essencial (Tabela 2).

Entre os compostos que se destacaram podem ser mencionados aqueles que tiveram um somatório de seus percentuais acima de 10 (Figura 1), como *N*-metil-antranilato de metila, que alcançou 84,6% no acesso BGC32, γ -terpineno, com 19,6%, limoneno apresentando 10,2% no acesso BGC35, *p*-cimeno 2,9% no BGC033 e β -pineno 2,0% no BGC040. Os compostos α -pineno (0,1%-1,7%), , mirceno (0,1%-0,6%), α -terpinoleno (0,3%-0,8%), α -terpineol (0,2%-0,4%) e (*E*)- β -cariofileno (0,7%-1,1%) foram encontrados em todas as amostras. Os compostos α -tujeno (0,4%-0,7%), sabineno (0-0,1%), (*E*)- β -ocimeno (0,2%-0,3%), óxido de linalol (0-0,2%), linalol (0,2%-0,8%), terpinen-4-ol (0,3%-0,4%) e carvacol (0-0,4%) foram encontrado em moderadas concentrações.

Os acessos BGC 41, 44 e 45 se destacam entre os outros devido ao maior rendimento de OE associado aos maiores teores químicos de limoneno (5,5%-7,3%), γ -terpineno (10,3%-14,7%) e principalmente *N*-metil-antranilato de metila (67,2%-76,0%), o qual, apresentou elevada concentração em todas as amostras.

Tabela 2. Porcentagem relativa dos constituintes químicos do óleo essencial em folhas dos acessos (código) de mexeriqueiras do BAG Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Constituinte Químico	IRL ²	Mêx. tetraploide 1585 (BCG043)	Mex. willow leaf (BCG045)	Mex. romana (BCG041)	Mex. giant of sicily (BCG035)	Mexe.Comum (BCG033)	Mex. big of sicily (BCG032)	Mex. Tuá (BCG044)	Mex. precoce (BCG040)
α-tujeno	928	0,6	0,6	0,6	0,5	0,4		0,4	0,7
α-pineno	936	1,4	1,4	1,5	1,2	1,2	0,1	0,9	1,7
sabineno	951						0,1		
β-pineno	978	1,7	1,7	1,8	1,8	1,7	1,4	1,4	2,0
mirreno	990	0,5	0,4	0,4	0,6	0,4	0,1	0,3	0,6
p-cimeno	1026	2,6	2,3	2,3	1,9	2,9	1,0	2,2	2,4
limoneno	1030	9,2	8,9	7,3	10,2	4,7	2,7	5,5	9,7
(E)-β-ocimeno	1049	0,3	0,2		0,3		0,2		0,3
γ-terpineno	1059	15,5	14,7	14,4	19,6	13,5	6,1	10,3	18,9
óxido de linalol	1072						0,2		0,2
α-terpinoleno	1088	0,6	0,5	0,5	0,8	0,5	0,3	0,4	0,7
linalol	1098	0,8	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,6	
terpinen-4-ol	1175		0,3	0,3		0,4	0,3	0,4	0,3
α-terpineol	1188	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,2
carvacrol	1298			0,4		0,4	0,4		
N-metil-antranilato de metila	1412	60,4	67,2	68,6	61,4	71,5	84,6	76	61,5
(E)-β-cariofileno	1414	0,9	0,7	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	0,9
α-humuleno	1447						0,1		
biciclogermacreno	1489						0,1		
espatulenol	1569						0,1		
óxido de carofileno	1574						0,3		
Total		94,8	99,7	99,8	100	99,2	99,6	99,8	99,8

¹ Índice de Retenção Linear (Kovats)

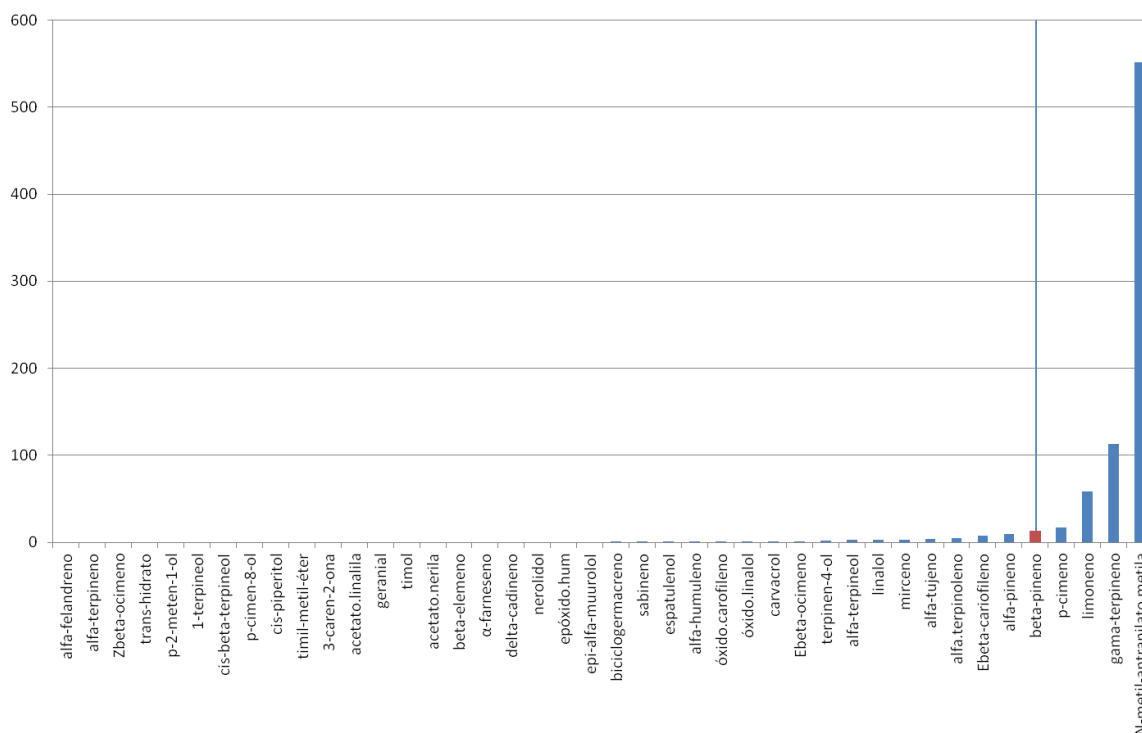


Figura 1. Soma dos valores de cada constituinte químico do óleo essencial dos acessos de *Citrus deliciosa*. A linha vertical representa a separação dos compostos com somatório superior a 10, para Análise de Componentes Principais.

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Lota et al. (2001), quanto a composição química dos OEs *petitgrain* em mexeriqueiras (*Citrus deliciosa*), nos quais foram encontrados, entre os mais expressivos: sabineno (0,1%-48,3%), γ -terpineno (2,2%-28,6%), (*E*)- β -ocimeno (0,5%-10,3%), p-cimeno (0,4%-3,9%) e linalol (0,2%-42,4%). Já Gancel et al., (2003), identificou *N*-metil-antranilato de metila (64,3%), limoneno (6,7%), p-cimeno (0,6%), γ -terpineno (6,3%) e outros compostos minoritários ($\leq 0,5\%$). Mondello et al., (1997) encontrou no *petitgrain* de tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco) *N*-metil-antranilato de metila representando 50% dos compostos identificados seguido por γ -terpineno (23,9%-28,5%), limoneno (7,2%-12,6%) e p-cimeno (3,0%-5,2%), enquanto Fanciullino et al. (2006), identificaram a presença de sabineno (0-56,5%), limoneno (1,7%-33,7%), linalol (0,1%-64,8%) e *N*-metil-antranilato de metila (0-72,6%). Baseado nos dados acima descritos, os acessos de mexeriqueira se comportaram de maneira semelhante quanto à composição do

OE das folhas, representados por altas concentrações de *N*-metil-antranilato de metila (até 84,6%), γ -terpineo (até 19,6%) e limoneno (até 10,2%).

Entre os principais produtos obtidos em óleo essencial das folhas de mexeriqueira, o limoneno, é utilizado na composição de produtos de limpeza e como solvente (BIZZO et al., 2009), enquanto o *N*-metil-antranilato de metila foi reconhecido pela importância no aroma típico das uvas (MASSA et al., 2008) sendo utilizado usado nas formulações de perfumes, sabões, águas de colônia e cosméticos em geral.

A Análise de Componentes Principais (ACP) dos constituintes químicos dos acessos possibilitou explicar 99,98% da variação existente, revelando a formação de um único grupo. O primeiro agrupamento (PC1) responde por 99,37% da variação existente sendo formado por todos os genótipos coletados devido à presença de elevado teor de *N*-metil antranilato de metila. (Figura 2).

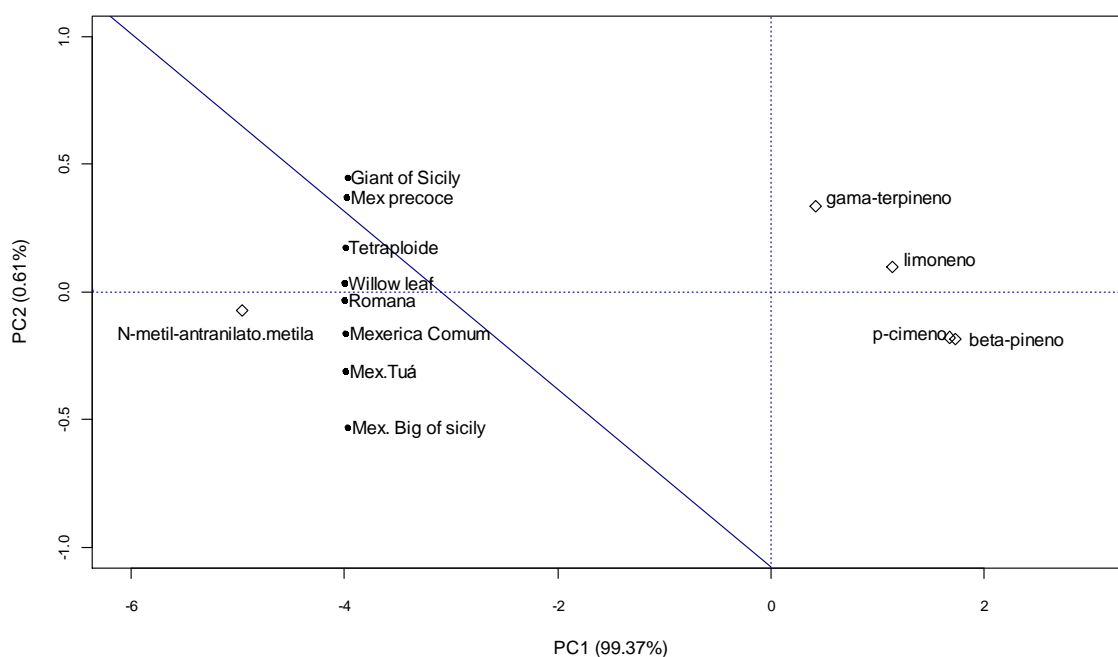


Figura 2. Análise dos Componentes Principais Biplot dos constituintes químicos dos óleos essenciais de folhas de acessos de *Citrus deliciosa* Ten. do Banco de Germoplasma de Citros (BCG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura coletadas em duas épocas distintas.

Este agrupamento evidencia uma semelhança muito grande entre os compostos químicos presentes no OE de folhas de *C. deliciosa*, onde a diferença fundamental foi devida às variações genótípicas. Mesmo assim, as composições químicas variaram no mesmo padrão, mantendo o agrupamento dos acessos quanto a sua composição química. Este fato era esperado, já que as plantas pertencem ao mesmo Banco de Germoplasma, sofrendo assim as mesmas influências abióticas e bióticas durante as coletas. Em extrações realizadas em plantas sobre as mesmas condições de cultivo, coleta e processamento, as diferenças na composição do óleo essencial estarão intimamente ligadas à expressão do genótipo (HOSNI et al., 2010).

Resultado semelhante ao encontrado, em que as temperaturas variaram de 21,2°C à 32,9°C e média de chuva de 2,26 mm, foi descrito por Tomi et al. (2008), trabalhando com variabilidade química de óleo essencial em folhas de 113 híbridos de *Citrus clementina* (Commun) × *Citrus deliciosa* (Willow Leaf), no qual foram formados dois grupos. O composto *N*-metil-antranilato de metila (36,8%-85,2%) formou um grupo, enquanto o outro foi subdividido, contendo os compostos γ -terpineno associado a linalol (7,3%-63,4%/1,3%-30,8%) em um subgrupo, sabineno com linalol (0%–57,2%/6,8%–76,4%), limoneno e outros compostos em proporções moderadas formando outro grupo.

Alguns compostos variaram entre os acessos analisados, as variações de temperatura e regime hídrico (Gráfico 1) durante o mês que antecedeu a coleta podem ter influenciado e na composição do óleo essencial (Tabela 2). Frizzo et al. (2004), observou esta variação nas mexeriqueiras (*C. deliciosa*) durante seu experimento com óleo essencial de frutos durante as quatro estações no ano de 2002, enfatizando a contribuição do *N*-metil-antranilto de metila no aroma característico da mexeriqueira Montenegrina e que as reações químicas específicas de cada planta na formação do OE dos cítricos contem informações importantes sobre a autenticidade dos óleos, a sua qualidade, a técnica de extração empregada, a origem geográfica, e sua biogênese.

Segundo Gobbo Neto e Lopes, (2007), as plantas quando submetidas a temperaturas e estresse hídrico podem responder com mudanças fisiológicas que, geralmente, influenciam na composição do óleo essencial, proporcionando uma maior concentração de compostos e aumento da produtividade (MORAIS,

2009). No período da coleta, verificou-se um aumento temperatura chegando à 32,9°C e com precipitação média de 1,79 mm, sendo que acima de 32°C a taxa de crescimento da parte área, em citros, passa a decrescer (SENTELHAS, 2005). Este aumento da temperatura pode ter ocasionado a diminuição de alguns compostos, exceto o composto *N*-metil-antranilato de metila que aumentou sua porcentagem na segunda época de coleta.

CONCLUSÕES

O Banco Germoplasma de Citros possui uma fonte de compostos químicos nas folhas dos acessos de mexeriqueira, como γ -terpineno, *N*-metil-antranilato de metila e limoneno presentes em maiores quantidades.

A análise de componentes principais permitiram mostrar que acessos de uma mesma espécie possuem constituição química semelhante, tendendo ao agrupamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry**. New York: Allured Publishing, 2007, 804p.

ALMEIDA, O. A. Informações meteorológicas do CNP. **Documentos**, 34. Embrapa. Cruz das Almas. 35 p. 1999.

BASER, K. H. C. ANALYSIS AND QUALITY ASSESSMENT OF ESSENTIAL OILS. In: SILVA, K. T. de. **A manual on the essential oil industry**. VIENNA, AUSTRIA. Nov.1995, p.155-179.

BIZZO, H. R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

DUGO, G.; DI GIACOMO, A. **Citrus, The genus Citrus**. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. v. 26, p. 1-15, 2002.

DUGO, P.; BONACCORSI, I.; RAGONESE, C.; RUSSO, M.; DONATO, P.; SANTI, L.; MONDELLO L. Analytical characterization of mandarin (*Citrus deliciosa* Ten.) essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 26, p. 34-46, 2011.

FANCIULLINO, A-L.; TOMI, F. LURO, F.; DESJOBERT, J. M.; CASANOVA; J. Chemical variability of peel and leaf oils of mandarins. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 21: p. 359-367, 2006.

FRIZZO, C. D.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Composition and seasonal variation of the essential oils from two mandarin cultivars of Southern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3036-3041, 2004.

GALINDO, M. P. Una alternativa de representacion simultanea: HJ-Biplot. **Questiio**, v. 10, n. 1, p. 13-23, 1986.

GANCEL, A-L; OLLITRAULT, P.; FROELICHER, Y.; TOMI, F.; JACQUEMOND, C.; LURO, F.; BRILLOUET, J-M. Leaf Volatile Compounds of Seven *Citrus* Somatic Tetraploid Hybrids Sharing Willow Leaf Mandarin (*Citrus deliciosa* Ten.) as Their Common Parent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6006-6013, 2003.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HOSNI, K.; ZAHED, N., CHRIF, R.; ABID, I.; MEDFEI, W.; KALLEL, M.; BRAHIM, N. B.; SEBEI, H. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian *Citrus* species: Evidence for the genotypic influence. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1098-1104, 2010.

LAWRENCE, B. M. Progress in essential oils; mandarin oil. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 26, n. 1, p. 36-44, 2001.

LOTA, M-L.; SERRA, D. R.; TOMI, F.; CASANOVA J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 61-78, 2000.

LOTA, M-L.; SERRA, D. R.; TOMI, F.; CASANOVA J. Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 77-04, 2001.

MASSA, M. J.; ROBACKER, D. C.; PATT, J. Identification of grape juice aroma volatiles and attractiveness to the mexican fruit fly (*diptera: tephritidae*). **Florida Entomologist**, v.91, n. 2, p. 266-276, 2008.

MONDELLO, L.; BASILE, A.; PREVITI, P.; DUGO, G. Italian *Citrus petitgrain* oils. II. Composition of mandarin *petitgrain* oil. **Journal of essential oil research**, v. 9, n. 3, p. 255-266, 1997.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050- 4063, (Suplemento - CD Rom), 2009.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

RIBEIRO, L. P.; SANTOS, D. M. B.; LIMA NETO, I. de A.; BARBOSA, M. F.; CUNHA, T. J. F. Levantamento detalhado dos solos, capacidade de uso e classificação de terras para irrigação da estação de Plasticultura da Universidade Federal da Bahia/Politeno em Cruz das Almas (BA). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, n. 1, p. 105-113, 1995.

SENTELHAS, P. C. Agrometeorologia dos citros. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JÚNIOR, J.; **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005, 929 p.

SOUZA, S. A. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n.10, 2010.

TANAKA, T. **Citologia**: Semi-centennial Commemoration Papers on *Citrus* Studies. Citologia Supporting Foundation: Osaka, Japan, 1961, 114p.

TOMI, F.; BARZALONA, M.; Joseph CASANOVA, J.; LURO, F. Chemical variability of the leaf oil of 113 hybrids from *Citrus clementina* (Commun) × *Citrus deliciosa* (Willow Leaf). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 152–163, 2008.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalisation of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, 463-471, 1963.

VENTURINI, N.; CURK F.; DESJOBERT, J-M.; Karp, D., COSTA, J.; PAOLINI, J. Chemotaxonomic investigations of peel and *Petitgrain* essential oils from 17 Citron cultivars. **Chemistry & Biodiversity**, v.7, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas são fontes de produtos naturais biologicamente ativos, dentre estes os óleos essenciais, produtos do metabolismo secundário (SOUZA et al., 2010), utilizados desde o início da história humana, para tratar alimentos e bebidas, como conservantes, higiene e perfumes, contribuindo para o bem-estar dos indivíduos, mostrando uma longa tradição sócio-cultural e sócio-econômico (FRANZ, 2010).

O óleo essencial, extraído das folhas de espécies de *Citrus* é conhecido como *petitgrain* e possui uma grande quantidade de compostos que os conferem suas características organolépticas, como odor e sabor marcante. Variações no rendimento e composição química podem ser observadas durante o ano, já que, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001).

Os acessos de laranjeira azeda (*Citrus aurantium* L.) e mexeriqueiras (*Citrus deliciosa* Ten.) fazem parte do Banco de Germoplasma de Citros da Embrapa, sendo o segundo maior da América Latina, e podem ser considerados fontes potenciais de óleos essenciais, para possível utilização comercial, já que, apresentam certa homogeneidade de compostos durante as épocas de coleta. Além disso, os genótipos de Citros podem ser enxertados em porta-enxertos viabilizando sua produção em larga escala, considerando que os Citros são uma *commodity* brasileira. Porém, a depender do o composto que se quer obter, pesquisas complementares devem ser conduzidas para definir a espécie e a época em que é alcançado maior teor de OE e concentração do composto desejado. Pesquisas para avaliação olfativa dos acessos também devem ser realizadas para aprimorar seu uso potencial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p. 112-113, 2010.

KUTCHAN, T. M. Ecological Arsenal and Developmental Dispatcher. The Paradigm of Secondary Metabolism.; **Plant Physiol**, v. 125, p. 58 – 60, 2001.

SOUZA, S. A. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n.10, 2010.