

## Caracterização dos óleos essenciais de frutas cítricas

Daniel L. R. Simas<sup>1</sup>, Silésia Helena Barboteu Martins de Amorim<sup>1</sup>, Júlia Mouta de Oliveira<sup>1</sup>,  
Daniela Sales Alviano<sup>2</sup> & Antonio Jorge Ribeiro da Silva<sup>1\*</sup>

### RESUMO

Determinou-se o teor e a composição química dos óleos essenciais de 11 espécies, totalizando 15 variedades de frutas cítricas adquiridas no comércio varejista no estado do Rio de Janeiro. A extração dos óleos essenciais foi realizada através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger. A identificação dos componentes dos óleos foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas, enquanto que a quantificação foi realizada por cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização em chama. O maior rendimento de extração foi de *Citrus sinensis* var. Seleta com 2,87% (m/m) e o menor foi de *C. limettioides* com 0,28% (m/m). Limoneno, a principal substância dos óleos cítricos, variou entre os 96,50% de *C. limettioides* e 43,52% de *C. aurantifolia*. Análise multivariada dos conjuntos de dados analíticos de cada amostra, foram realizadas com a finalidade de agrupá-las em função da sua composição química. Dois grupos resultaram desta análise, e a divisão em grupos foi fortemente influenciada pelo teor de limoneno nas amostras analisadas.

**Palavras chave:** *Citrus*, limoneno,  $\gamma$ -terpineno e  $\beta$ -pineno.

### SUMMARY

#### Characterization of essential oils of citrus fruits

The content and chemical composition of essential oils of 11 species, totalizing 11 varieties of citrus fruits purchased in retail trade in the state of Rio de Janeiro, were determined. The extraction of essential oils was performed by hydrodistillation in Clevenger apparatus. The identification of the components of the oils was carried out by gas phase chromatography coupled to mass spectrometry, whereas the quantitation was performed by gas chromatography with flame ionization detection. The highest yield of extraction was *Citrus sinensis* var. Seleta with 2.87% (m/m) and the lowest was *C. limettioides* with 0.28% (m/m). Limonene, the main component in citrus oils ranged from 96.50% (*C. limettioides*) to 43.52% (*C. aurantifolia*). Multivariate analysis of sets of analytical data of each sample were performed in order to group them according to their chemical composition. Two groups resulted from this analysis, and the division into groups was strongly influenced by limonene content in the analyzed samples.

**Index terms:** Citrus, limonene,  $\gamma$ -terpinene and  $\beta$ -pinene.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Inst. Pesquisas Produtos Naturais Walter B. Mors. CCS, Bloco H - Ilha do Fundão, 21941-902, Rio de Janeiro-RJ.

\* Autor correspondente - E-mail: danielsimas16@gmail.com.

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Goes. Rio de Janeiro-RJ.

## INTRODUÇÃO

Estima-se que o surgimento do gênero *Citrus* deu-se há cerca de 20 a 30 milhões de anos e que o provável centro de origem e diversificação tenham sido as regiões subtropicais e tropicais do continente asiático e arquipélagos malaios (Webber, 1967; Nunes, 2005). Atualmente o gênero *Citrus* encontra-se difundido por grande parte do globo e, em muitos países, representa um item importante na pauta de exportações. O Brasil se destaca atualmente como o segundo maior produtor mundial de frutas deste gênero. Um dos principais fatores que contribuem para esta posição na produção de frutas cítricas é seu clima. A localização geográfica do Brasil permite o desenvolvimento de uma citricultura tropical (predominância de temperaturas altas) a partir da linha do equador até as proximidades do paralelo 20, latitude sul (Espírito Santo) e, também, uma citricultura em temperaturas mais amenas, em terras que vão desde o paralelo 20 até o Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2007).

A cultura de frutas cítricas é um negócio organizado, com produção mundial anual de aproximadamente 90 milhões de toneladas. O Brasil, com mais de 16 milhões de toneladas, é o segundo maior produtor mundial de frutas cítricas. O Brasil se destaca como o principal produtor de laranjas com 33,5% da produção mundial, a China é o maior produtor de tangerinas com 67,7% e de grapefruit com 64,4% e o México o maior produtor de limões e limas com 31,7% (USDA, 2016).

A produção de frutas cítricas atende diversos mercados consumidores. Da produção brasileira, que conta com cerca de 1 milhão de hectares de plantações de cítricos, cerca de 70% é direcionada para a elaboração de sucos industrializados, principalmente de laranja. Esta produção coloca o país na primeira posição entre os países exportadores de sucos congelados de frutas cítricas (USDA, 2016). Além do suco, outros produtos são extraídos de frutas cítricas, como óleos essenciais e o bagaço. O bagaço dessas frutas possui elevado valor econômico, principalmente para a produção de alimento para animais ruminantes (Ítavo et al., 2000; Teixeira, 2001).

Os óleos essenciais de frutas cítricas são em sua grande maioria obtidos por prensagem a frio, como subproduto do processo de fabricação de suco (Biasi &

Deschamps, 2009). O processo de obtenção por arraste a vapor também é bastante utilizado. O Brasil figura como o terceiro maior exportador de óleos essenciais do mundo atrás de EUA e França, sendo que cerca de 90% dessas exportações, são de óleos de frutas cítricas (Ferraz et al., 2009; Souza et al., 2010).

Dados de 2005 mostram que o mercado mundial de óleos essenciais movimentou em torno de US\$ 15 milhões/ano com crescimento de aproximadamente 11% ao ano (COMTRADE, 2005; Bizzo et al., 2009). Segundo Bizzo et al. (2009), no período de janeiro de 2005 a outubro de 2008, o Brasil exportou 287.759 toneladas de óleos de frutas cítricas, onde a grande maioria 86% foi de laranja, 8% de limão, 3% de lima e 3% de outros cítricos.

Os óleos essenciais possuem aplicações em diferentes áreas industriais como em perfumaria, farmacêutica, materiais de limpeza, alimentos e bebidas. Estes óleos também têm despertado interesse da comunidade científica devido às suas atividades antimicrobianas (Bakkali et al., 2008). Neste sentido, este tipo de material vegetal se caracteriza como uma importante alternativa para o combate a microrganismos patogênicos. Por serem matrizes complexas, os óleos essenciais podem atuar através de diferentes mecanismos de ação, diminuindo assim a resistência gradativamente adquirida por esses patógenos (Raut & Karuppaiyl, 2014). Outro ponto positivo para o uso de óleos essenciais no combate às bactérias, vírus e fungos está na tendência crescente de demanda por produtos bioativos provenientes de fontes naturais, diminuindo o emprego de substâncias sintéticas que agridem o meio ambiente e a saúde humana (Raut & Karuppaiyl, 2014).

Os óleos essenciais cítricos possuem mais de 200 substâncias em proporções variáveis na sua composição. De acordo com Mehl et al. (2014) a fração volátil (85% a 99% do óleo) é composta por terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), seus derivados oxigenados e por alcoóis alifáticos, ésteres e aldeídos. O limoneno é o componente principal dos óleos essenciais de *Citrus* (30% a 97% dependendo da espécie). Outros componentes também contribuem para a composição do perfil químico como:  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (~ 0,3% até ~15%),  $\gamma$ -terpineno (~ 10%), mirceno (~ 3%) e outros.

O limoneno é o componente majoritário na composição dos óleos de frutas cítricas. Seu teor varia, entre as diferentes espécies e entre as variedades

de uma mesma espécie, conferindo a cada variedade propriedades diferentes e possibilidades distintas de utilização. Neste sentido o objetivo deste trabalho é fornecer aos produtores, consumidores e pesquisadores um panorama da variação da composição química dos óleos essenciais de algumas das frutas cítricas comercializadas no Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Material vegetal:** As amostras de frutas cítricas foram adquiridas em estabelecimentos comerciais escolhidos aleatoriamente na cidade do Rio de Janeiro - RJ, Brasil. Os frutos foram escolhidos considerando-se seu bom aspecto físico e ausência evidente de sinais de doenças bem como de sinais de dano mecânico durante transporte e armazenamento. Em seguida foram prontamente encaminhados para o processo de extração. Um número médio de 4 amostragens foi tomado para cada espécie ou variedade de fruta. Em seguida a composição individual dos óleos de cada amostragem foi obtida e a partir desses dados foram realizados cálculos de média aritmética para gerar as composições médias de cada espécie ou variedade. Neste trabalho foram estudadas as seguintes espécies e variedades: mexerica (*Citrus deliciosa* Tenore), tangerina Ponkan (*C. reticulata* Blanco), tangor Murcott (*C. reticulata* x *C. sinensis* (L.) Osbeck), cidra (*C. medica* L.); lima da Pérsia – (*C. limettioides* Tanaka), grapefruit ou pomelo (*C. paradisi* Macfad), lima ácida Tahiti (*C. latifolia* Tanaka), limão Siciliano (*C. limon* (L.) Osb.), lima ácida Galego (*C. aurantifolia* Swingle), limão Cravo (*C. limonia* (L.) Osb.), laranja Azeda (*C. aurantium* L.) e as laranjas Bahia, Lima, Pêra e Seleta (*C. sinensis*).

**Preparo das amostras** – Os frutos foram descascados com faca e 150 g de cascas provenientes de todos os frutos de cada amostra foram homogeneizadas com 1 litro de água destilada em um *Waring blender* e imediatamente submetidas à hidrodestilação em um aparelho de Clevenger modificado, por duas horas. Após a extração os óleos foram secos com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e estocados à  $-18^\circ\text{C}$ . O rendimento médio para os óleos foi calculado com base em percentagem de massa de óleo obtido em relação à massa de cascas utilizada.

**Análises quantitativas por CG/DIC** - As análises cromatográficas foram realizadas em um aparelho Shimadzu GC 2010 (Tóquio, Japão) equipado com

detector de ionização em chama. Foi usada uma coluna capilar de sílica fundida DB5 (30 m, 0,25 mm d.i., filme líquido de 0,25  $\mu\text{m}$ ). A temperatura do forno foi programada entre  $60-246^\circ\text{C}$  com aquecimento de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$  seguida de uma isoterma a  $246^\circ\text{C}$  por 20 min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em  $220^\circ\text{C}$  e  $290^\circ\text{C}$  respectivamente. Para a realização das análises os óleos foram diluídos 1:10 em  $\text{CHCl}_3$  e uma alíquota de 1  $\mu\text{L}$  foi injetada sob razão de *split* 1:30, usando  $\text{H}_2$  como gás de arraste (1,44 mL/min). Os índices de retenção das substâncias foram determinados através da interpolação linear com uma série de n-alcenos ( $\text{C}_7\text{-C}_{30}$ ). As quantidades relativas foram calculadas baseadas nas áreas dos picos obtidos nos cromatogramas sem o uso de fator de correção.

**Identificação das substâncias por CG-EM** - Os perfis de composição química dos óleos foram obtidos em um equipamento de cromatografia gasosa Shimadzu 2010 Plus equipado com um detector de massas com analisador quadrupolar em modo de ionização eletrônica a 70 eV. As substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílica fundida DB5 (30 m, 0,25 mm d.i., filme líquido de 0,25  $\mu\text{m}$ ). A temperatura do forno foi programada de  $60-246^\circ\text{C}$  em  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ , e em seguida mantida em  $246^\circ\text{C}$  por 20 minutos. O detector de massas foi utilizado nas seguintes condições: temperatura da interface de  $290^\circ\text{C}$  e faixa de varredura de 40 até 500 Da. As temperaturas do injetor e do detector foram respectivamente de  $220^\circ\text{C}$  e  $290^\circ\text{C}$ . Razão de *split* de 1:30 e volume de injeção de 1  $\mu\text{L}$ . O gás carreador utilizado foi He (99.999%) sob uma vazão de 1 mL/min.

A identificação individual das substâncias presentes em cada óleo foi baseada (i) na comparação dos seus espectros de massas com os contidos na biblioteca de espectros do NIST e (ii) na comparação dos seus índices de retenção obtidos em coluna DB-5 (fase: 5% fenilmetilsilicone), com os índices de padrões autênticos e dados da literatura (Adams, 2007).

**Análises estatísticas** - Para a comparação entre as diferentes amostras foi utilizado o teste de análise de variância (one way ANOVA) com pós-teste de Tukey com 5% de significância. As análises multivariadas foram aplicadas sobre a tabela de composição percentual média dos diferentes óleos estudados. A Análise de Componentes Principais (*Principal Components Analysis* - PCA) foi realizada com 5 Componentes Principais (*Principal Components* - PC),

peso 1 para todas as variáveis e amostras, validação cruzada com uma amostra por segmento e sem rotação. A análise de Agrupamentos Hierárquicos (*Hierarchical Cluster Analysis* -HCA) foi realizada pelo método de Ward usando a distância euclidiana ao quadrado. O programa Unscrambler® X 10.2 (Camo Software, Noruega (Wass, 2013) foi utilizado para a realização das análises multivariadas e o programa GraphPad Prism 5.00 para Windows (Graphpad Software, USA) foi utilizado para a realização das análises de variância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o rendimento médio de cada amostra de fruta cítrica estudada pelo nosso grupo. As variações de rendimento encontradas podem ser devidas a características morfológicas da espécie/variedade, sazonalidade/data da colheita de cada amostra (Neto & Lopes, 2007), bem como ao seu tempo de prateleira.

A amostra que apresentou maior rendimento de extração de óleo por hidrodestilação foi a laranja Seleta (*C. sinensis*) com 2,87%, enquanto o menor rendimento foi observado em lima da Pérsia (*C. limettioides*) com 0,28%. Devido ao baixo rendimento de óleo na extração de *C. limettioides* houve diferença significativa ( $p < 0,05$ )

no rendimento em relação a sete outras amostras, sendo mexerica (*C. deliciosa*), Ponkan (*C. reticulata*), Murcott (*C. reticulata* x *C. sinensis*) e as laranjas Bahia, Lima, Pera e Seleta (*C. sinensis*). A amostra com maior rendimento de extração de óleo, *C. sinensis* var. Seleta, também apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação a sete amostras (*C. medica.*, *C. limettioides*, *C. paradisi*, *C. latifolia*, *C. limonia*, *C. aurantifolia* e *C. aurantium*). Das amostras estudadas apenas *C. limon* (limão Siciliano) não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação a nenhuma das outras amostras.

A Tabela 2 apresenta as composições dos óleos essenciais das frutas estudadas. Foram detectadas 61 substâncias diferentes das quais 60 foram identificadas. Os resultados publicados por Teixeira et al, que determinaram a composição de quinze genótipos de limão (*C. limon*) (Teixeira et al., 2013) e oito genótipos de mexerica (*C. deliciosa*) além de um genótipo de tangerina (*C. reticulata.*) (Teixeira et al., 2014), também apresentaram como componentes mais abundantes nos óleos, limoneno,  $\gamma$ -terpineno e  $\beta$ -pineno para os limões, enquanto limoneno,  $\gamma$ -terpineno foram os constituintes majoritários nas variedades de tangerina e mexericas estudadas. Os valores percentuais encontrados são comparáveis os obtidos em nosso grupo.

**Tabela 1.** Rendimentos médios de extração dos óleos essenciais de 15 amostras de frutas cítricas

Amostra	Variedade	Rendimento (% m/m)*	Desvio padrão
<i>C. deliciosa</i>	mexerica	1,99a,b	0,00
<i>C. reticulata</i>	tangerina Ponkan	1,92c	0,00
<i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i>	tangor Murcott	1,74d	0,01
<i>C. medica</i>	cidra	1,05e	0,00
<i>C. limettioides</i>	lima da Pérsia	0,28a,c,d,f,g,h,i	0,00
<i>C. paradisi</i>	grapefruit ou pomelo	1,21j	0,01
<i>C. latifolia</i>	limão Tahiti	1,06k	0,40
<i>C. limon</i>	limão Siciliano	1,57	0,21
<i>C. limonia</i>	limão Cravo	0,68b,l,m	0,19
<i>C. aurantifolia</i>	lima ácida Galego	1,01n	0,01
<i>C. aurantium</i>	laranja da Terra ou Azeda	0,87o,p	0,22
<i>C. sinensis</i>	laranja Bahia	1,68f	0,18
<i>C. sinensis</i>	laranja Lima	2,09g	0,69
<i>C. sinensis</i>	laranja Pêra	2,03h,l,o	1,19
<i>C. sinensis</i>	laranja Seleta	2,87e,i,j,k,m,n,p	0,95

\*Letras iguais indicam diferença significativa, Tukey, 5% de significância.

Tabela 2. Composição dos óleos essenciais de quinze frutas cítricas

Substância	Índice de retenção	<i>C. deliciosa</i>		<i>C. reticulata</i> var. Ponkan (%)	<i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i> var. Murcott (%)	<i>C. medica</i> (%)	<i>C. limettioides</i> (%)	<i>C. paradisi</i> (%)	<i>C. latifolia</i> (%)
		var. Mexerica (%)	var. Murcott (%)						
2-hexenal	854	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -tujeno	932	0,48	0,16	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	0,43
$\alpha$ -pineno	940	1,39	0,74	0,44	0,44	1,32	0,34	0,38	1,82
canfeno	955	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27
sabineno	978	0,18	0,64	0,21	0,21	0,22	0,00	0,00	1,29
$\beta$ -pineno	982	0,84	2,03	0,00	0,00	1,62	0,00	0,41	9,59
mirreno	992	2,27	0,17	1,75	1,75	1,39	1,85	1,81	1,35
n-octanal	1001	0,00	0,00	0,46	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -felandreno	1005	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15
3-careno	1014	0,24	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,15	0,00
$\alpha$ -terpineno	1020	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34
r-cimeno	1028	1,18	0,10	0,00	0,00	3,94	0,00	0,00	1,07
limoneno	1037	77,01	89,69	95,38	95,38	54,92	96,50	94,28	52,49
$\beta$ -ocimeno	1053	0,00	0,00	0,00	0,00	1,32	0,00	0,29	0,16
$\gamma$ -terpineno	1062	13,57	4,68	0,00	0,00	26,83	0,00	0,00	13,47
n-octanol	1072	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
trans-óxido linalol	1075	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
cis óxido de linalol	1089	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
terpinoleno	1089	0,60	0,21	0,00	0,00	1,14	0,00	0,00	0,76
linalol	1099	0,18	0,39	0,31	0,31	0,00	0,13	0,13	0,64
nonanal	1103	0,00	0,00	0,12	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
trans-p-menta-2,8-dien-1-ol	1122	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
cis-óxido de limoneno	1135	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
trans-óxido de limoneno	1140	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
citronelal	1155	0,00	0,00	0,13	0,13	0,00	0,58	0,00	0,00
terpinen-4-ol	1178	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,81
$\alpha$ -terpineol	1196	0,27	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	2,15
n-decanal	1204	0,14	0,28	0,39	0,39	0,25	0,00	0,35	0,11
octanol acetato	1212	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
trans-carveol	1218	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 1. Continuação...

Substância	Índice de retenção	<i>C. deliciosa</i> var. Mexerica (%)	<i>C. reticulata</i> var. Ponkan (%)	<i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i> var. Murcott (%)	<i>C. medica</i> (%)	<i>C. limettioides</i> (%)	<i>C. paradisi</i> (%)	<i>C. latifolia</i> (%)
cis-carveol	1230	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
nerol	1229	0,12	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,47
neral	1241	0,00	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	1,72
carvona	1243	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
geraniol	1256	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,50
acetato de linalila	1258	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
geranial	1270	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	2,33
aldeído perfílico	1273	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
álcool perfílico	1296	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
undecanal	1310	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00
d-elemeno	1340	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16
acetato de nerila	1365	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	1,08
$\alpha$ -copaene	1378	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
acetato de geranila	1384	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,37
$\beta$ -elemeno	1392	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
n-dodecanal	1407	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00
cis- $\alpha$ -bergamotene	1415	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19
$\beta$ -cariofileno	1420	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,77
trans- $\alpha$ -bergamoteno	1438	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,35	1,43
a-humuleno	1454	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15
(E)- $\beta$ -farneseno	1458	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22
germacreno D	1481	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
valenceno	1492	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -bisaboleno	1504	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21
$\beta$ -bisaboleno	1509	0,00	0,00	0,00	0,59	0,00	0,00	2,66
d-cadineno	1522	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00
germacreno B	1557	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57
D-nerolidol	1564	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -bisabolol	1685	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
N. I.*	1823	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00
Total		98,18	99,09	99,19	97,43	99,40	98,23	97,95

Tabela 1. Continuação...

Substância	Índice de retenção	C. limon (%)	C. limonia (%)	C. aurantifolia (%)	C. aurantium (%)	C. sinensis var. Bahia (%)	C. sinensis var. Lima (%)	C. sinensis var. Pêra (%)	C. sinensis var. Seleta (%)
2-hexenal	854	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
$\alpha$ -tujeno	932	0,40	0,43	0,16	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -pineno	940	1,51	2,03	1,37	1,01	1,34	0,87	0,86	1,05
canfeno	955	0,11	0,02	0,08	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
sabineno	978	2,05	1,20	1,33	0,69	0,75	0,46	0,77	1,37
$\beta$ -pineno	982	12,82	8,96	15,02	2,72	0,06	0,04	0,04	0,08
mirceno	992	1,63	1,93	1,07	2,49	4,79	3,36	3,28	4,04
n-octanal	1001	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,30	0,89	0,89
$\alpha$ -felandreno	1005	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-careno	1014	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,09	0,39	0,41
$\alpha$ -terpineno	1020	0,28	0,43	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
r-cimeno	1028	1,63	0,70	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
limoneno	1037	65,30	65,69	43,52	70,72	89,39	93,03	85,32	86,62
$\beta$ -ocimeno	1053	0,00	0,14	0,37	0,00	0,06	0,00	0,02	0,07
$\gamma$ -terpineno	1062	8,44	12,27	6,96	0,00	0,32	0,06	0,06	0,09
n-octanol	1072	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,23	0,24
trans-óxido linalol	1075	0,00	0,00	0,00	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00
cis óxido de linalol	1089	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
terpinoleno	1089	0,41	0,68	0,56	0,00	0,06	0,00	0,08	0,07
linalol	1099	0,19	0,20	0,60	1,26	0,55	0,38	3,34	2,46
nonanal	1103	0,14	0,00	0,11	0,00	0,04	0,06	0,16	0,15
trans-p-menta-2,8-dien-1-ol	1122	0,00	0,00	0,00	0,42	0,04	0,04	0,10	0,03
cis-óxido de limonene	1135	0,00	0,00	0,00	1,43	0,05	0,09	0,81	0,11
trans-óxido de limoneno	1140	0,14	0,00	0,00	1,30	0,09	0,13	0,31	0,08
citronelal	1155	0,00	0,31	0,00	0,00	0,05	0,06	0,13	0,14
terpinen-4-ol	1178	0,29	1,02	1,39	0,00	0,05	0,04	0,25	0,20
$\alpha$ -terpineol	1196	0,42	1,73	1,83	0,80	0,05	0,08	0,68	0,30
n-decanal	1204	0,00	0,06	0,39	0,00	0,51	0,64	0,61	0,83
octanol acetato	1212	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00
trans-carveol	1218	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	0,00

Tabela 1. Continuação...

Substância	Índice de retenção	C. limon (%)	C. limonia (%)	C. aurantifolia (%)	C. aurantium (%)	C. sinensis var. Bahia (%)	C. sinensis var. Lima (%)	C. sinensis var. Pêra (%)	C. sinensis var. Seleta (%)
cis-carveol	1230	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,19	0,00
nerol	1229	0,16	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,12	0,13
neral	1241	0,96	0,00	4,44	0,00	0,00	0,00	0,22	0,16
carvona	1243	0,00	0,00	0,00	0,94	0,11	0,00	0,25	0,08
geraniol	1256	0,18	0,00	0,72	0,00	0,00	0,00	0,05	0,13
acetato de linalila	1258	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00
geranial	1270	1,25	0,00	6,42	0,00	0,00	0,00	0,32	0,23
aldeído perfílico	1273	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,14	0,00
álcool perfílico	1296	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
undecanal	1310	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
d-elemeno	1340	0,13	0,00	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
acetato de nerila	1365	0,40	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -copaene	1378	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
acetato de geranila	1384	0,28	0,00	0,69	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00
$\beta$ -elemeno	1392	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
n-dodecanal	1407	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,04	0,14
cis- $\alpha$ -bergamotene	1415	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\beta$ -cariofileno	1420	0,25	0,21	1,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
trans- $\alpha$ -bergamoteno	1438	0,24	0,38	1,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
a-humuleno	1454	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(E)- $\beta$ -farneseno	1458	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
germacreno D	1481	0,00	0,24	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
valenceno	1492	0,00	0,00	0,18	0,00	0,86	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -bisaboleno	1504	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\beta$ -bisaboleno	1509	0,35	0,73	4,19	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00
d-cadineno	1522	0,00	0,05	0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
germacreno B	1557	0,00	0,00	1,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D-nerolidol	1564	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -bisabolol	1685	0,00	0,00	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N. I.*	1823	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total		98,67	99,41	98,46	86,98	99,63	99,71	97,00	99,51



O limoneno é a substância majoritária em todos os óleos analisados com quantidade variando entre 96,50% e 43,52%. A lima da Pérsia (*C. limettioides*) foi a amostra com maior teor de limoneno enquanto que Galego (*C. aurantifolia*) foi a amostra com menor teor de limoneno presente no óleo. O limoneno é um monoterpene cujo aroma tem uma característica nota cítrica. Esta substância tem sido utilizada como aditivo em alimentos, bebidas e gomas de mascar devido às suas propriedades flavorizantes. O mesmo também é parte importante em fragrâncias, pode ser utilizado como solvente e como ativo em produtos de limpeza. É considerado seguro para administração pela *Food and Drug Administration* (FDA, 2015), sendo também aprovado pela *U.S. Environmental Protection Agency* (EPA, 1993) para uso como inseticida natural e como repelente.

Outras substâncias também contribuem de maneira importante para a composição dos óleos de frutas cítricas, como por exemplo, o  $\gamma$ -terpineno, o  $\beta$ -pineno, o mirceno e o  $\alpha$ -pineno. O monoterpene  $\gamma$ -terpineno não foi detectado nas amostras de *C. limettioides* (lima da Pérsia), *C. paradisi* (grapefruit ou pomelo) e tangor Murcott, enquanto que *C. medica* (cidra), com 26,83%, foi a amostra com maior teor da substância. O  $\beta$ -pineno também não foi detectado em duas amostras, Murcott e lima da Pérsia, enquanto o seu maior teor foi encontrado em Galego (*C. aurantifolia*) com 15,02%. As substâncias mirceno e  $\alpha$ -pineno apresentaram menores teores em *C.*

*reticulata* (Ponkan) (0,17%) e *C. limettioides* (lima da Pérsia) (0,34%), respectivamente. Mirceno e  $\alpha$ -pineno tiveram suas maiores concentrações relativas medidas respectivamente em *C. sinensis* var. Bahia (4,79%) e *C. limonia* (limão Cravo) (2,03%).

O linalol é conhecido por conferir importante propriedade organoléptica (intenso aroma floral) aos óleos cítricos. A espécie *C. medica* foi a única que não apresentou níveis detectáveis de linalol, enquanto que *C. sinensis* var. Pêra possui o óleo com maior teor desta substância (3,34%) dentre os óleos estudados.

Devido à natureza complexa dos óleos essenciais foram aplicadas metodologias de análises multivariadas aos dados analíticos obtidos, no intuito de agrupar as espécies/variedades em função da sua composição química.

Primeiramente foi realizada uma análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) com o objetivo de encontrar e separar objetos em grupos similares. O critério de variância mínima de Ward foi utilizado com a finalidade de reunirem em um mesmo grupo objetos que proporcionem o menor aumento da variância intragrupo (Mingoti, 2005).

A Figura 1 mostra o dendrograma obtido através da análise de HCA com os resultados da Tabela 1. É possível observar uma clara separação entre dois grupos que possuem como diferença principal o teor de limoneno nas suas composições. Neste caso, amostras

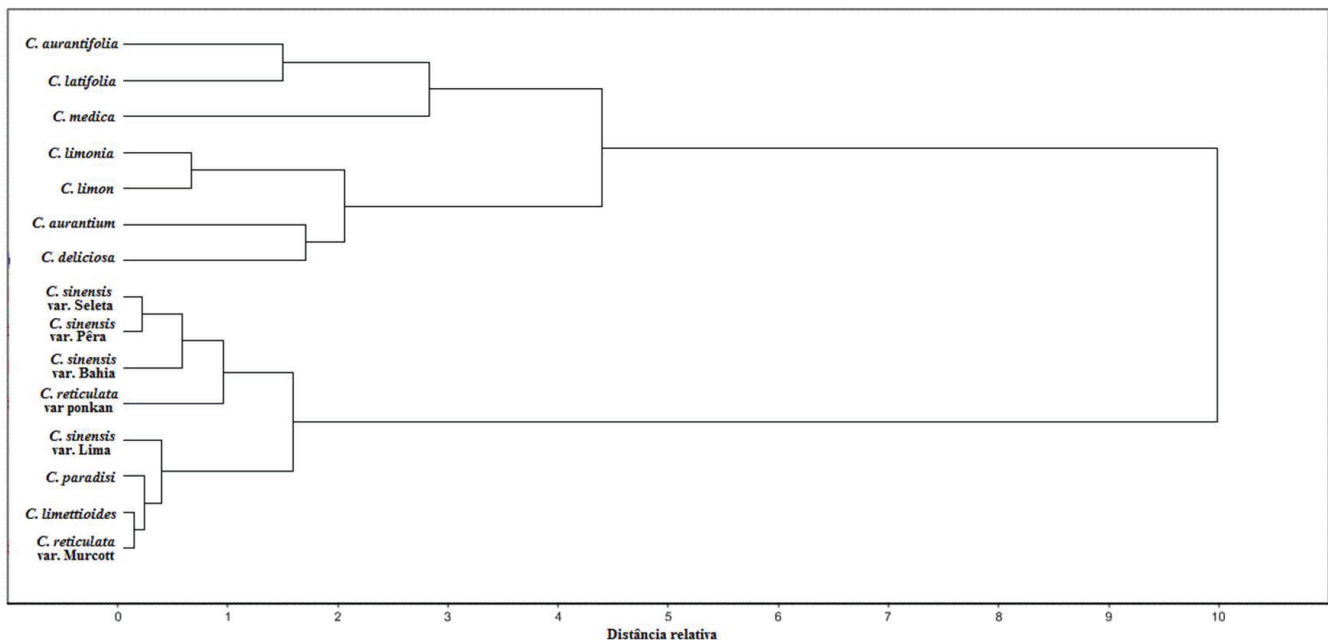
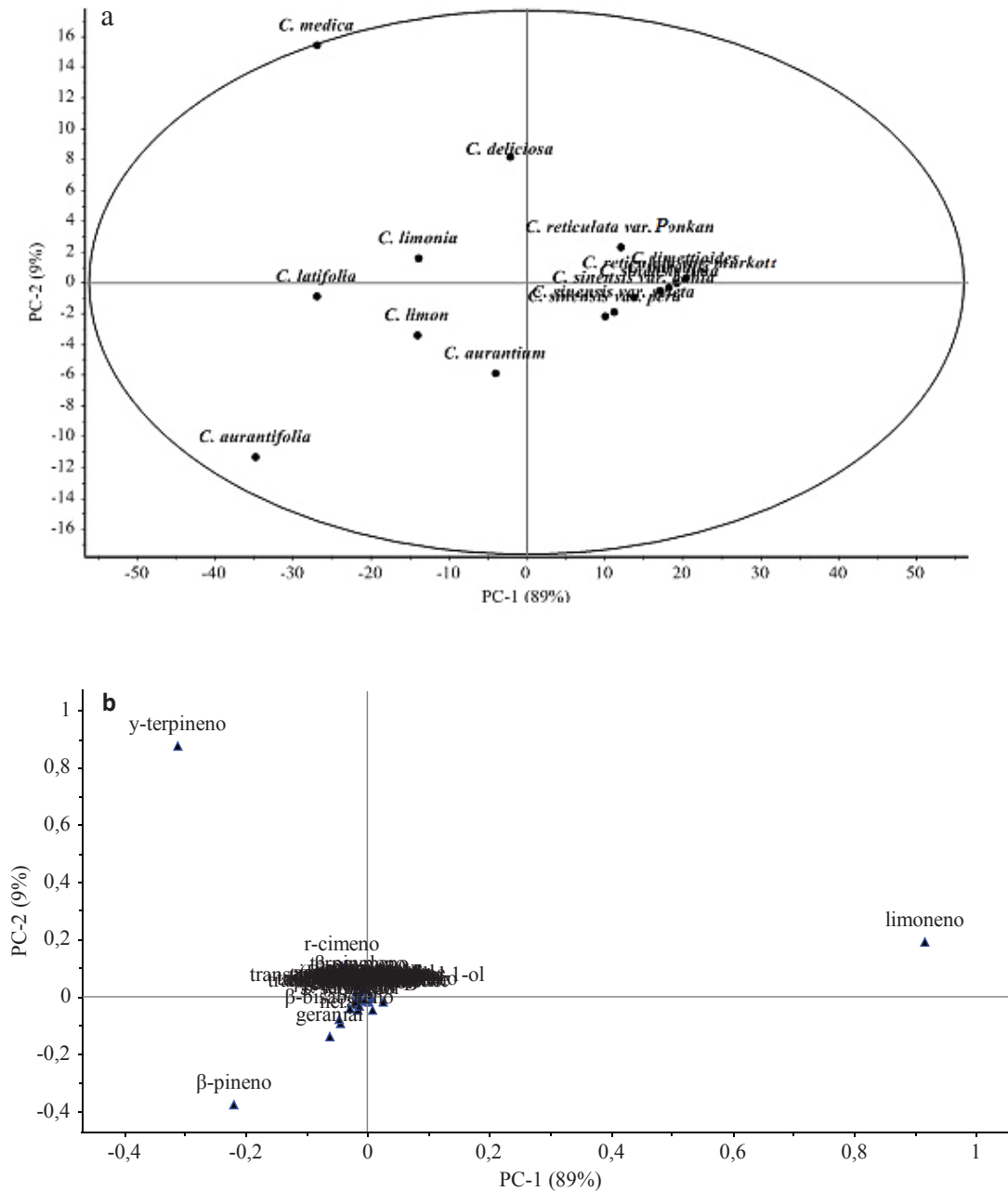


Figura 1. Dendrograma de quinze amostras de frutas cítricas. Método Ward de variância.

com altos teores de limoneno (acima de 77,01%) foram reunidos no grupo inferior juntamente com *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. paradisi*, *C. limettioides* e o híbrido Murcott (*C. reticulata* x *C. sinensis*), enquanto que amostras com teores menos pronunciados de limoneno (igual ou abaixo de 77,01%) foram agrupados no grupo superior (*C. aurantifolia*, *C. latifolia*, *C. medica*, *C. limonia*, *C. limon*, *C. aurantium* e *C. deliciosa*).

Foi aplicada também uma análise de componentes principais com o intuito de maximizar as diferenças entre as respectivas amostras. A PCA também foi realizada sobre a tabela de composição percentual dos óleos estudados. O gráfico de *scores* é mostrado na Figura 2a e o gráfico de *loadings* (pesos ou carregamentos) é mostrado na Figura 2b.



**Figura 2. a.** Gráfico de scores da PCA sobre a composição percentual dos óleos essenciais de quinze amostras diferentes de frutas cítricas. **b.** Gráfico de loadings da PCA sobre a composição percentual dos óleos essenciais.

APCA aplicada explicou 99,66% da variância total dos dados, dos quais 88,51% foram explicados pela PC-1, 8,73% pela PC-2, 1,66% pela PC-3, 0,49% pela PC-4 e 0,25% pela PC-5. A PC-1 separou o conjunto de quinze amostras em dois grupos distintos. No quadrante positivo foram agrupadas oito amostras enquanto que no quadrante negativo sete amostras encontram-se agrupadas. Através da análise do gráfico de *loadings* é possível observar que a variável com maior peso na variância explicada pela PC-1 é o componente majoritário em todos os óleos, o limoneno. Neste sentido, corroborando o resultado obtido pela análise de HCA, a PC-1 agrupou o conjunto de dados em dois grupos relativos aos teores de limoneno de cada amostra. No quadrante positivo foram agrupadas as 8 amostras com teores de limoneno relativamente altos (acima de 77,01%) e no quadrante negativo as sete amostras com teores menos pronunciáveis desta substância (igual ou menor que 77,01%).

Ao observar os resultados da PC-2 não é possível notar uma clara separação entre grupos, contudo esta análise foi capaz de explicar a variação no teor de outras substâncias que também contribuem de maneira significativa na composição de óleos essenciais de frutas cítricas. Neste sentido, correlacionando as informações dos gráficos de *scores* e de *loadings* este componente direcionou para o quadrante positivo amostras com um gradativo aumento nos teores de  $\gamma$ -terpineno. Por outro lado foram atribuídos valores negativos para amostras com maiores teores gradativos de  $\beta$ -pineno.

## CONCLUSÕES

Os óleos de quinze amostras de frutas cítricas foram extraídos com rendimento de extração variando entre 0,28% e 2,87% m/m. *C. sinensis* var. *Seleta* apresentou o maior rendimento enquanto que *C. limettioides* var. *lima* da Pérsia forneceu o menor rendimento. Limoneno é principal constituinte dos óleos com variação entre 43,5 e 96,5% sendo *C. limettioides* a amostra com maior teor de limoneno (96,5%).

As análises de HCA e PCA agruparam as amostras em grupos distintos segundo seus teores de limoneno,  $\gamma$ -terpineno e  $\beta$ -pineno. Neste sentido foi possível gerar informações aos produtores, consumidores e pesquisadores sobre o panorama da variação da composição química dos óleos essenciais de algumas das frutas cítricas comercializadas no Brasil

## REFERÊNCIAS

- Adams RP (2007) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th edn. Allured, Carol Stream, IL, 804p.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D & Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology 46:446-475.
- Biasi LA & Deschamps C (2009) Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, Curitiba, 160p.
- Bizzo HR, Hovell AMC & Resende CM (2009) Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova 32(3):588-594.
- COMTRADE (2005) Disponível em: <[http://data.un.org/Data.aspx?d=ComTrade&f=\\_11Code%3a34](http://data.un.org/Data.aspx?d=ComTrade&f=_11Code%3a34)>. Acessado em: 20 ago. 2015.
- EMBRAPA (2007). Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosBahia\\_2ed/importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosBahia_2ed/importancia.htm)>. Acesso em: 9 set. 2015.
- EPA (1993) U.S. Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision: Flower and Vegetable Oils. EPA-738-F-93-02. Washington: U.S. Environmental Protection Agency.
- FDA (2015) U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations 21CFR182.20.
- Ferraz JBS, Barata LES, Sampaio PB & Guimarães GP (2009) Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. Ciência e Cultura 61(3): 45-53.
- GraphPad Software, Inc. GraphPad Prism version 5.00. San Diego California USA, <[www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)>. Acesso em: 6 out. 2015.
- Ítavo LCV, Santos GT & Jobim CC (2000) Aditivos na conservação do bagaço de laranja in natura na forma de silagem. Revista Brasileira de Zootecnia 29(5):1474-1484.
- Mehl F, Marti G, Bocard J, Debrus B, Merle P, Delort E, Baroux L, Raymo V, Velazco MI, Sommer

- H, Wolfender JL & Rudaz S (2014) Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: a metabolomic approach. *Food Chemistry* 143:325-335.
- Mingoti AS (2005) Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada. UFMG, Belo Horizonte, 297p.
- Neto LG & Lopes NP (2007) Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30 (2):374-381.
- Nunes MJC, Novelli VM, Nunes WMC, Moreira ALOR, Carvalho SA & Machado MA (2005) Aurantioideae: Uma revisão da taxonomia e filogenia, com as contribuições da sistemática molecular. *Laranja*, 26(2):359-374.
- Raut JS & Karuppayil SM (2014) A status review on the medicinal properties of essential. *Industrial Crops and Products* 62:250–264.
- Souza SAM, Meira MR, Figueiredo LS & Martins ER (2010) Óleos essenciais: Aspectos econômicos e sustentáveis. *Enciclopédia biosfera - Centro Científico Conhecer* 6(10):1-11.
- Teixeira JC (2001) Utilização da polpa cítrica na alimentação de bovinos leiteiros. Parte I. *Milkbizz Tecnologia* 1(3):25-28.
- Teixeira JPF, Marques MOM & Figueiredo JO (2013) Composição química de óleos essenciais de quinze genótipos de limão em duas épocas de colheita. *Citrus Research & Technology* 34(2):65-74.
- Teixeira JPF, Marques MONM & Pio, RM (2014) Caracterização dos óleos essenciais em frutos de nove genótipos de tangerina. *Citrus Research & Technology* 35(1):1-10.
- Wass JA (2013) Unscrambler X 10.3: Useful Niche Software. *Scientific Computing* 2013(12):22-29.
- Webber JH (1967) History and development of the Citrus industry. In: Reuther W, Batchelor LD & Webber HJ (Eds). *The citrus industry*. Berkeley: University of California Press, p.1-39.
- USDA (2016) Citrus: United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service January World Markets and Trade. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em: 27 abr 2016.

---

*Recebido: 18/11/2015 – Aceito: 23/05/2016  
(CRT 082-15)*