



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS  
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA (CIMBA)  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA  
CENTRO DE CIÊNCIAS INTEGRADAS

**MATEUS SOUZA E SILVA**

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sp*  
NATIVO DO CERRADO TOCANTINENSE DA CIDADE DE ARAGUAÍNA  
POR ARRASTE A VAPOR E CG/MS.**

Araguaína – TO  
2023

**MATEUS SOUZA E SILVA**

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sp*  
NATIVO DO CERRADO TOCANTINENSE DA CIDADE DE ARAGUAÍNA  
POR ARRASTE A VAPOR E CG/MS.**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFNT – Universidade Federal do Norte do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína TO, Curso de Licenciatura em Química, como requisito parcial de avaliação na disciplina de estágio supervisionado IV – TCC e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Professor, Dr. Joseilson Alves de Paiva.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

S729e Souza e Silva, Mateus.

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sp*  
NATIVO DO CERRADO TOCANTINENSE DA CIDADE DE ARAGUAÍNA  
POR ARRASTE A VAPOR E CG/MS. / Mateus Souza e Silva. – Araguaína, TO,  
2023.

61 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus  
Universitário de Araguaína - Curso de Química, 2023.

Orientador: Joseilson Alves de Paiva

1. *Citrus sp*. 2. Óleo essencial. 3. CG/MS. 4. Sistema Clevenger. I. Título

CDD 540

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer  
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.  
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184  
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da  
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

**FOLHA DE APROVAÇÃO****MATEUS SOUZA E SILVA****EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sp*  
NATIVO DO CERRADO TOCANTINENSE DA CIDADE DE ARAGUAÍNA  
POR ARRASTE A VAPOR E CG/MS.**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFNT – Universidade Federal do Norte do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína TO, Curso de Licenciatura em Química, como requisito parcial de avaliação na disciplina de estágio supervisionado IV – TCC e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação 30/11/2023

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 JOSEILSON ALVES DE PAIVA  
Data: 30/11/2023 16:14:23-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Joseilson Alves de Paiva

Documento assinado digitalmente  
 VIVIANE MAYUMI MARUO  
Data: 30/11/2023 16:25:50-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Profa. Dra. Viviane Mayumi Maruo

Documento assinado digitalmente  
 JANE DARLEY ALVES DOS SANTOS  
Data: 01/12/2023 10:01:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Profa. Dra. Jane Darley Alves dos Santos

Araguaína – TO  
2023

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela proteção, força e paz interior, que me encoraja em momentos em que tudo parecia impossível. Sempre atendeu as minhas orações e permitiu que concluísse mais uma etapa da minha vida

Agradeço à minha família pela ajuda e apoio nessa caminhada difícil, em especial minha mãe Núbia Maria, meu pai Deusimar Passos, meus irmãos Marcos Souza, Maike Souza, e ao meu primo New Lennon, a minha prima Guyrlane e sua família. A minha patroa e patrão, Lenilda e Muriel, e a equipe do Lanche do Mura.

Agradecimento especial ao meu orientador **Prof. Paiva**, por toda a paciência, pela dedicação em ajudar nessa última etapa, não somente no TCC como também nas disciplinas de orgânica 1 e 2, em bioquímica, espectroscopia, analítica quantitativa, na orientação do trabalho no CBQ 2023, e também as dúvidas do dia-a-dia, isso contribuiu muito para minha formação profissional.

Agradeço aos professores da UFNT e aos professores do colegiado de química, prof<sup>ª</sup>. Josilana, prof<sup>ª</sup>. Adriana, prof<sup>ª</sup>. Jane Darley, prof<sup>ª</sup>. Flamys, prof<sup>ª</sup>. Luciane, prof<sup>ª</sup>. Verenna, prof<sup>ª</sup>. Renata, prof. Francisco, prof. Daniel barbosa, prof. Daniel Barra, prof. Niculau, prof. Expedito.

Os técnicos e técnicas de laboratório, Ana Rosa, Gildete, Gilberto, pela atenção e acompanhamento, a ex técnica de laboratório Karolina Lima Nogueira pelo apoio, atenção, amizade e conhecimentos compartilhados.

Agradeço aos meus amigos universitários da turma de ingresso 2017.2: Karina Tatilla, Anderson Felipe, Hellen Morais, Gilvana, Gisele Milhomem, Rebecca Poleze, Paulo Gezaias, Sergio Williams, Tânia, Gleicy, Fabrício, Fernando, Isaac, Irís, Lauanne, Felipe Prado, Welligton, Delano, Kalyne, Kelyanne, Carla, Silvelene, Máisa, Milena.

Agradeço aos amigos e ex-alunos do curso de química: Pedro Cordeiro, Maksueny, Natália, Natália Mariana, Deusiane, Felipe Brito, Felipe Borba Danilo, Rodrigo Mazzighy, Jully Caroline, Milene Paixão, Karolyne Paixão, Elder, Luana, Glediston, Paulo Ricardo, Rafael, Ruan, Nayomar, Thalia, Valmor, Carlos Alexandre.

Agradeço aos amigos e atuais alunos do curso de química de 2023: Ana Rita, Deboha, Erick, Luis Felipe & Brenda, Lucas Emanuel, Adrielle Maciel, Bianca, Levy, Guilherme Pinheiro, Martha Cristina, Pedro Rian, Thauanne, Karen Leticia, Eduardo Alencar, Andressa Danieli, Jesla, Yarla, Brena, Jullyanne, Raquel & Welligton, Taynara.

Aos professores de outros curso: Regina Lélis, Roberta, Domênica, Claudia, Stefânia, Fábio, Alexandro, Samuel, Danilo, Anderson, Matheus Lobo,

Agradeço aos amigos de outros cursos: Jonas Gomes, Marcelo, Abraão, Edgar, Patricia teles, Loide Wynne, Caio, Stefânio, Francielly, Matheus, Victor Mendes,

A banca examinadora: Professora Jane Darley, Professora: Viviane Mayumi Maruo.

Aos servidores da UFT: Adriano, Maria.

Aos programas institucional de bolsas: Alvorecer, CAPES, CNPQ, PIBID, PIBIC.

## RESUMO

O cerrado brasileiro apresenta grande diversidade de espécies vegetais com grande potencial medicinal. Óleos essenciais, são substâncias naturais, com odores distintos, expelidos por glândulas especializadas de plantas aromáticas, com estrutura química formada basicamente por carbono, hidrogênio e oxigênio, tendo na sua composição componentes distintos que caracterizam o aroma agradável. A extração e caracterização dos óleos essenciais das espécies nativas trazem contribuição na compreensão desta potencialidade. O presente trabalho tem como objetivo coletar, extrair e caracterizar os constituintes do OE de espécie de *citrus* nativo do cerrado tocantinense. Fez-se três coletas das folhas frescas de *citrus sp*, e uma coleta do fruto durante o final do período chuvoso, no mês de maio e junho de 2023, na cidade de Araguaína. A extração do OE deu-se através da destilação por arraste a vapor em sistema Clevenger, o rendimento médio obtido das extrações foi de 0,17%. Os constituintes químicos do OE, foi caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas CG/EM. Obteve-se como componentes: pineno; D-limoneno; Eucaliptol;  $\delta$ -3-careno; terpinoleno;  $\gamma$ -terpineno; linalol; isopulegol, das extrações das folhas frescas de *Citrus sp*. Os componentes obtidos da extração do fruto: 3- Careno;  $\alpha$ -Fellandreno; Pineno; o-Cimeno; D-limoneno;  $\gamma$ -terpineno. Além disso, com a finalidade de ampliar o conhecimento sobre espectrometria de massas, foram propostas as fragmentações para os picos de maior abundância relativa dos espectros de massas, que são: Isopulegol (Pico molecular  $m/z = 154$ , pico  $m/z = 121$ , pico  $m/z = 95$ , pico base  $m/z = 41$ );  $\lambda$ -Terpineno (Pico molecular  $m/z = 136$ , pico base  $m/z = 93$ ); o-Cymeno (Pico molecular  $m/z = 134$ , pico base  $m/z = 119$ ).

**Palavras-chave:** *Citrus sp*; Óleo essencial; CG/EM; Sistema Clevenger.

## ABSTRACT

The Brazilian cerrado has a great diversity of plant species with power medicinal potential. Essential oils are natural substances with distinct smells, expelled by specialized glands of aromatic plants, with a chemical structure basically made up of carbon, hydrogen and oxygen, having composition distinct components that characterize the pleasant aroma. The extraction and characterization of essential oils from native species can contribute to understanding this potential. The objective of this study was to collect, extract and characterize the EOs of *Citrus* species native in Cerrado region of Tocantins. Three collections of fresh *Citrus sp* leaves and one collection of the fruit were made at the end of the rainy season, in May and June 2023, in the city of Araguaína, with the following geographical coordinates 7°10'54.2"S 48°11'51.0"W. The EO was extracted using steam distillation coupled to a Clevenger system, with an average yield of 0.17%. The chemical constituents of the EO were characterized by gas chromatography coupled with GC/MS mass spectrometry. The following components were obtained: pinene; D-limonene; Eucalyptol;  $\delta$ -3-carene; terpinolene;  $\gamma$ -terpinene; linalool; isopulegol, from the extractions of the fresh leaves of *Citrus sp*. The components obtained from the extraction of the fruit: 3- Carene;  $\alpha$ -Fellandrene; Pinene; o-Cymene; D-limonene;  $\gamma$ -terpinene. Furthermore, to expand our knowledge in mass spectrometry, we proposed fragmentations for peaks with greater relative abundance.

**Keywords:** *Citrus sp*; Essential oil; GC/MS; Clevenger system.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama esquematizado de um cromatógrafo a gás. Adaptado de SKOOG, 2006. ....	24
Figura 2: Cromatógrafo acoplado a espectrometria de massas (GC/MS). ....	25
Figura 3: Comparação do padrão de fragmentação entre amostra e biblioteca. ....	26
Figura 4: Limoeiro. ....	30
Figura 5: Folhas e frutos coletados. ....	31
Figura 6: Sistema Clevenger com folhas de Citrus sp. ....	32
Figura 7: Tratamento da amostra de óleo essencial. ....	33
Figura 8: Óleo essencial de Citrus sp. ....	33
Figura 9: Óleo essencial de Citrus sp em frasco de penicilina. ....	34
Figura 10: Laboratório de cromatografia (LABCROM). ....	35
Figura 11: Cilindro de gás Hélio. ....	35
Figura 12: Sulfato de Sódio Anidro P.A. ....	38
Figura 13: Óleo essencial obtido. ....	38
Figura 14: Estrutura química dos constituintes identificados do OE de folhas. ....	40
Figura 15: Estrutura química dos constituintes identificados do OE do fruto de Citrus sp. ....	41
Figura 16: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-17-05-23. ....	42
Figura 17: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-31-05-23. ....	43
Figura 18: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-07-06-23. ....	44
Figura 19: Cromatograma da amostra Mat-oleo-casca-24-05-23. ....	45
Figura 20: Espectro de Massas do componente D-Limoneno (Tr = 10:24 min).....	47
Figura 21: Proposta de fragmentação do $m/z=121$ , à partir do íon molecular M 136....	47
Figura 22: Proposta de $m/z = 93$ , partindo do íon molecular $M^+ 136$ Fonte: Mazzinghy (2021) ....	48
Figura 23: Proposta de fragmentação do pico $m/z = 68$ . ....	48
Figura 24: Espectro de Massas do componente Isopulegol (Tr = 15:61 min).....	50
Figura 25: Proposta de fragmentação própria do autor do $m/z = 121$ , à partir do íon molecular ....	50
Figura 26: Proposta de fragmentação própria do autor do $m/z = 95$ , partindo do pico $m/z = 121$ .....	51

Figura 27: Proposta de fragmentação própria do autor do $m/z = 41$ , partindo do íon molecular .....	51
Figura 28: Espectro de Massas do componente Pineno (Tr = 08:26 min) .....	52
Figura 29: Proposta de fragmentação do $m/z = 121$ , à partir do íon molecular .....	53
Figura 30: Proposta de fragmentação do $m/z = 93$ , à partir do íon molecular .....	53
Figura 31: Espectro de Massas do componente $\lambda$ -Terpineno (Tr = 11:51 min).....	54
Figura 32: Proposta de fragmentação de Alves (1998), do $m/z = 121$ , à partir do íon molecular .....	55
Figura 33: Proposta de fragmentação própria do autor do $m/z = 93$ , partindo do íon molecular .....	55
Figura 34: Espectro de Massas do componente o-Cymeno (Tr = 10:10 min).....	56
Figura 35: Proposta de fragmentação própria do autor do $m/z = 119$ , partindo do íon molecular .....	57

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Exemplos de constituintes de óleos essenciais.....	18
Tabela 2: Classificação dos terpenos baseada na quantidade de átomos de carbono.....	20
Tabela 3: Importação de óleos essenciais pela União Europeia em 2004 de países em desenvolvimento.....	21
Tabela 4: Dados climáticos das coletas.....	36
Tabela 5: Rendimento de óleo essencial das amostras obtidas.....	39
Tabela 6: Componentes do OE das folhas frescas de <i>Citrus sp</i> detectados/identificados por CG/EM.....	40
Tabela 7: Componentes do OE do fruto de <i>Citrus sp</i> detectados/identificados por CG/EM.....	41

**LISTA DE QUADROS**

Quadro - 1 Dados do componente Limoneno.....	46
Quadro - 2 Dados do componente Isopulegol .....	49
Quadro - 3 Dados do componente Pineno .....	52
Quadro - 4 Dados do componente $\lambda$ -Terpineno .....	54
Quadro - 5 Dados do componente o-Cymeno .....	56

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**OE** - Óleo essencial.

**OEs** - Óleos essenciais

**CG/EM** - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas.

**EO** - Essential oil

**EOs** - Essential oils

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1 Importância dos óleos essenciais.....	17
2.2 Componentes químicos dos óleos essenciais .....	17
2.3 Terpenos .....	19
2.4 Óleos essenciais no mercado .....	20
2.5 Aplicações dos óleos essenciais .....	21
2.6 <i>Citrus sp.</i> .....	22
2.7 Técnicas de extração dos óleos essenciais.....	22
2.8 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas.....	23
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral .....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 Materiais e Reagentes.....	29
4.2 Material vegetal .....	29
4.3 Extração do óleo essencial.....	31
4.4 Identificação dos compostos químicos por cromatografia gasosa.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
5.1 Material vegetal e condições climáticas .....	36
5.2 Análise do processo de extração e rendimento do OE .....	37
5.3 Compostos voláteis identificados no OE de <i>Citrus sp</i> .....	39
5.4 Caracterização dos constituintes do óleo da folha.....	46
5.5 Caracterização dos constituintes do óleo do fruto.....	54
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	58

APÊNDICE .....	64
APÊNCICE A – TRABALHO APRESENTADO NO 62º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA 2023. ....	64

## 1 INTRODUÇÃO

A química de produtos naturais é a subárea mais antiga da química orgânica. A exploração de produtos naturais, é um dos campos mais convencionais da química. Desde os tempos antigos na era da alquimia, esse ramo da química já era reconhecido (TORSSELL, 1983 & PINTO, 2002). Dada a diversidade estrutural e de grupos funcionais presentes nas milhares de substâncias que compõem a biodiversidade terrestre, a química dos produtos naturais sempre desempenhou um papel importante no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, cosméticos, fragrâncias e outros produtos naturais (BOLZANI, 2016).

A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior do que a dos produtos sintetizados em laboratório, que, apesar dos progressos consideráveis, ainda são limitados. Além disso, os produtos naturais exibem frequentemente propriedades para além das propriedades antimicrobianas associadas (NISBET; MOORE, 1997).

Diante disto, com o aumento do conhecimento humano e da tecnologia, a exploração por plantas aromáticas aumentou consideravelmente. O mercado de cosméticos e fragrâncias destacam-se na exploração das plantas aromáticas, onde algumas espécies foram descobertas, e contribuíram para a indústria de perfumaria, tornando-se popular a extração de óleo essencial (SIMÕES et al., 2002; BRITO et al., 2015).

Quando se trabalha com espécies aromáticas, vale ressaltar que, o cultivo, a colheita e pós-colheita dessas espécies seja tratada de maneira adequada, garantindo a qualidade do produto final e com altos teores desejáveis de óleo essencial (LIMA et al., 2013). Dessa forma, diversas espécies aromáticas se adaptam às diversidades climáticas distintas em períodos de seca e chuva. Dessa forma, as plantas apresentam características aromáticas excelentes para extração de óleo essencial (RODRIGUES et al., 2020).

O cerrado é conhecido como savana brasileira e, apresenta grande diversidade química e biológica, destaca-se também por possuir mais de 12.000 espécies de plantas vasculares catalogadas, fato que, vem estimulando estudos de compostos químicos com potencial para uso medicinal (BESSA, 2013).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Importância dos óleos essenciais**

OEs também chamados de óleos voláteis, são produtos obtidos de plantas aromáticas através de técnica de destilação por arraste a vapor d'água. De forma geral, são misturas complexas de substâncias lipofílicas. Sua principal característica é a volatilidade, que destaca-se suas propriedades aromatizantes que são: aparência oleosa à temperatura ambiente; aroma agradável e intenso na maioria dos óleos (LUPE, 2007).

OEs são compostos aromáticos, que por sua vez, são extraídos de folhas, flores, cascas, frutos, raízes, caules, ou de todas as partes de uma planta aromática. Esses óleos possuem grande relevância industrial, e são empregados na indústria de perfumaria, cosmética, alimentícia e farmacêutica, tornando-se geralmente componentes naturais para aplicação medicinal (TRANCOSO, 2013).

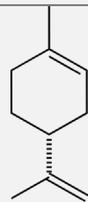
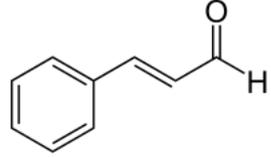
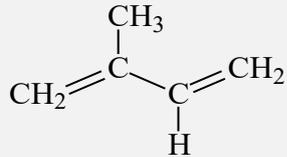
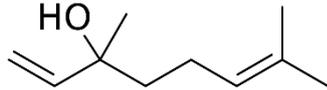
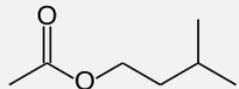
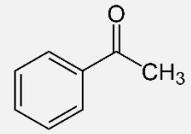
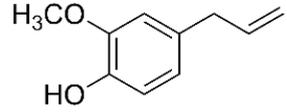
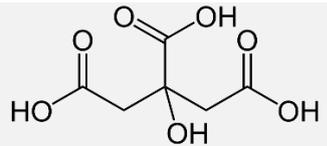
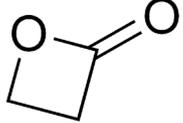
### **2.2 Componentes químicos dos óleos essenciais**

Óleos Essenciais (OE), são substâncias naturais, com odores distintos, expelidos por glândulas especializadas de plantas aromáticas, com estrutura química formada basicamente por carbono, hidrogênio e oxigênio, tendo na sua composição moléculas de natureza terpênica, que caracterizam o aroma agradável (SIQUEIRA, 2020). Óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis, são produtos obtidos a partir de plantas através de destilação por arraste em vapor d'água (OLIVEIRA et al., 2017).

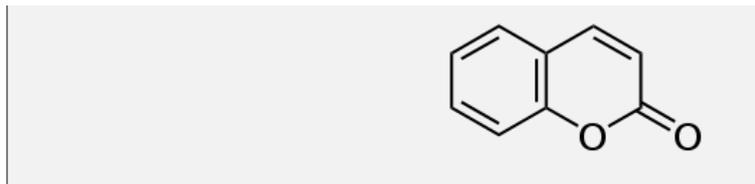
Os produtos químicos produzidos pelas espécies vegetais, são divididos em dois grupos. O primeiro são macromoléculas essenciais a todos os seres vivos, que são: glicídios, protídeos, lipídios com funções vitais bem definidas (SIMÕES, 2003). O segundo grupo são metabólitos secundários ou micromoléculas de baixo peso molecular com estruturas complexas. Os componentes químicos dessas espécies vegetais, apresentam odor distinto de cada planta, porém são encontrados em concentrações relativamente baixas em determinados grupos de algumas espécies vegetais (SIMÕES et al., 2002).

Os óleos essenciais possuem uma gama de componentes químicos, dentre eles são: hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, fenóis, ácidos carboxílico, lactona, cumarinas. De modo geral, a mescla de tais componentes, apresenta características distintas na sua composição química, alguns componentes apresentam maior teor e outros com teor bem baixo, que são chamados de traços (FILIPPIS, 2001).

Tabela 1 - Exemplos de constituintes de óleos essenciais.

Função química	Exemplo	Estrutura química
Hidrocarbonetos	Limoneno	
Aldéidos	Cinamaldeído	
Terpênicos	Alcadienos	
Álcool	Linalool	
Éster	Acetato de isopentila	
Éter	Eucalyptol	
Cetona	Acetofenona	
Fenol	Eugenol	
Ácido carboxílico	Ácido cítrico	
Lactona	Éster cíclico	

Cumarinas



Fonte: adaptado de FILIPPIS (2001) & SILVEIRA et al (2012).

### 2.3 Terpenos

Os produtos produzidos pelas plantas através do metabolismo secundário ou micromoléculas, na maior parte dos casos apresentam estrutura complexa, nesse caso os terpenos constituem o maior grupo de produtos secundários. Diversas substâncias desta classe, geralmente, são insolúveis em água e são sintetizadas a partir do acetil CoA ou de intermediários glicolíticos (MANGANOTTI et al., 2010).

Quimicamente, os terpenos podem ser definidos como “alcenos naturais”, ou seja, apresentam uma dupla ligação entre dois átomos de carbono, sendo caracterizado como um hidrocarboneto insaturado (Mc MURRY, 2011).

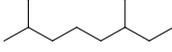
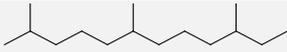
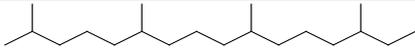
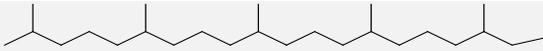
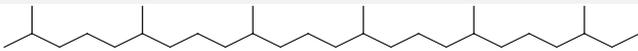
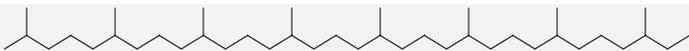
De outra forma, se um terpeno contém oxigênio, ele é denominado terpenoide, sendo capaz de apresentar diferentes funções orgânica, entre as quais são: ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos. De forma geral, os óleos essenciais são constituídos majoritariamente por terpenos ou seus derivados (FELIPE & BICAS, 2017).

Apesar da desconformidade estrutural entre si, todos os terpenos e terpenoides são basicamente estruturados em blocos de cinco carbonos – unidades de isopreno ( $C_5H_8$ ), em geral, ligado entre si pela ordem “cabeça a cauda”, o que caracteriza a chamada “regra do isopreno” (LOMMIS & CROTEAU, 2014).

Os monoterpenos e sesquiterpenos, em suas estruturas químicas apresentam volatilidade acentuada e de menor massa molecular. Essa característica química dos produtos naturais, apresenta grande relevância para o aroma dos óleos voláteis na maioria das frutas cítricas, ervas aromáticas, dentre outros derivados. Por outro lado, moléculas com estrutura química superior aos monoterpenos e sesquiterpenos, devido ao tamanho da cadeia carbônica, praticamente não contribuem com o aroma (SOUSA, 2018).

Os terpenos podem ser classificados de acordo com a quantidade de isopreno em sua estrutura. Os monoterpenos são compostos por duas unidades de isopreno com um total de dez carbonos. Os sesquiterpenos são compostos por unidade de três isopreno, no total de quinze carbono, os diterpenos por unidade de vinte carbono, os triterpenos por unidade de trinta carbono, tetraterpenos por unidades de quarenta carbono (FELIPE & BICAS, 2017).

Tabela 2 - Classificação dos terpenos baseada na quantidade de átomos de carbono.

Classificação	Estrutura química	Quantidade de átomo de carbono
Hemiterpenos		5
Monoterpenos		10
Sesquiterpenos		15
Diterpenos		20
Triterpenos		30
Tetraterpenos		40
Politerpenos		>40

Fonte: adaptado de FELIPE & BICAS (2017) e MAZZINGHY (2021).

## 2.4 Óleos essenciais no mercado

Óleos essenciais são matérias-primas aplicadas pela indústria de perfumaria, que ocupa 14% do mercado de cosméticos no Brasil, produtos de limpeza e pela indústria alimentícia. Eles também são usados pelas indústrias química e farmacêutica (MANGANOTTI et al., 2010).

O volume de produção e consumo de óleos essenciais no Brasil se deve em grande parte à eficiência da indústria cosmética brasileira. As vendas de 1996 a 2008 cresceram de R\$ 4,9 bilhões para R\$ 21,7 bilhões, do lado do consumidor (ABIHPEC, 2009).

Em 2007, o Brasil ficou em 3º lugar no mundo em exportações de óleos essenciais, faturando aproximadamente US\$ 147 milhões, perdendo apenas para os EUA e a França. O Brasil produz e exporta, em ordem de importância, óleos de laranja, limão, eucalipto, rosa, lima e limão, entre outros (FERRAZ et al., 2009).

Tabela 3 - Importação de óleos essenciais pela União Europeia em 2004 de países em desenvolvimento.

Óleo essencial	País	Importação (US\$ milhões)
Laranja	Brasil (38%), Cuba (2%), África do Sul (1%)	62
Limão	Argentina (50%), México (4%), Brasil (3%)	57
Hortelã-pimenta	Índia (12%), China (3%)	55
Outras mentas	Índia (22%), China (15%), Marrocos (1%)	38
Outros cítricos	Brasil (5%), Cuba (5%) África do Sul (20%)	37
Lavanda	China (3%), Geórgia (1%)	19
Lima	México (33%), Peru (14%), Brasil (4%), Argentina (2%)	18
Bergamota	Costa do Marfim (4%)	15
Cravo-da-índia	Madagascar (26%), Comores (18%), Maiote (9%)	15
Jasmim	Egito (44%), Índia (28%), Madagascar (1%)	5
Total	China (6%), Brasil (5%), Argentina (5%), Índia (5%)	601

Fonte: adaptado de BIZZO et al., (2009, p. 588) & MANGANOTTI et al., (2010).

## 2.5 Aplicações dos óleos essenciais

As propriedades terapêuticas e organolépticas dos óleos essenciais, em geral, se devem à presença de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides dentre outras substâncias voláteis, compatível a propriedades farmacológicas devido à volatilidade e a outras propriedades biológicas (OLIVEIRA, 2012).

Os óleos essenciais têm grande impacto na medicina natural, no tratamento de doenças tropicais, incluindo infecções bacterianas. Levando em consideração, que

algumas bactérias apresentam resistência a múltiplos antimicrobianos, é evidente a necessidade encontrar novas substâncias, com propriedades antimicrobianas para serem aplicadas no combate a esses microrganismos (ALVES, et al., 2000).

Os óleos essenciais também podem ser utilizados no combate contra sintomas comuns, de acordo com Almeida et al. (2013), o uso medicinal do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC), é eficaz contra gripes, disenteria, dores de cabeça, e também como calmante e antiespasmódico; em geral, possui ação antimicrobiana.

## **2.6 *Citrus sp***

A espécie *Citrus limonia*, também conhecida como limão-cravo, limão-china e limão-rosa, faz parte da família Rutaceae, que é constituída por 160 gêneros e mais de 2 mil espécies disseminadas em todo o mundo. No Brasil, essa família é caracterizada em torno de 29 gêneros e 182 espécies (ESTEVAM, 2017).

O gênero *Citrus sp*, de origem indiana é uma árvore espinhenta, podendo chegar até 6 metros de altura, seus frutos são redondos achatados, as folhas são verdes e aromáticas. Essa família é caracterizada pela forte presença de componentes aromáticos, devido à presença de óleo essencial (SCHNITZEL; CARNEIRO, 2005; REDA; BATISTA; BARANA, 2017).

Os *Citrus* são importantes fontes de ácido hidroxicinâmico, flavonoides e de óleo essencial a partir do flavedo (casca), sendo que, em sua composição química, exclusivamente são: D-limoneno,  $\beta$ -Pinoeno,  $\gamma$ -Terpineno. Os compostos extraídos da casca do limão, apresentam importantes atividades biológicas, pois operam como excelentes agentes antioxidantes inibidores (MENESES, 2020).

## **2.7 Técnicas de extração dos óleos essenciais**

Para conseguir extrair e isolar os compostos aromáticos dos óleos essenciais, são utilizadas diferentes técnicas de extração que são: hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação por arraste a vapor, extração por fluido supercrítico dentre outros. O uso da técnica de destilação por arraste a vapor é de 93% enquanto outros métodos é de apenas 7% (SILVEIRA et al., 2015).

A técnica de hidrodestilação é um método eficiente para extração de OE, esse processo tem como base um aparato conhecido como cleveger. Nesse sistema, o material vegetal é colocado no interior de um balão de fundo redondo, esse material vegetal fica submerso em água onde é mantido em manta de aquecimento. Com o aquecimento, a água atinge o ponto de ebulição arrastando os compostos voláteis presente no material

vegetal. Em seguida, ao chegar no condensador é possível captura e separa o OE (OLIVEIRA, 2013).

A extração por solventes orgânico, devido alguns OEs serem muito instáveis e não suportarem os altos níveis de temperatura são utilizados os solventes orgânicos para sua extração, tais como o hexano, benzeno, metanol, propanol, acetona e diversos solventes clorados. É possível extrair o OE do material vegetal em contato direto com o solvente orgânico. Depois de um intervalo de tempo, os constituintes voláteis se solubilizam no solvente, e dependendo das propriedades físico-química do solvente é possível separar o OE do solvente (FILLIPIS, 2001).

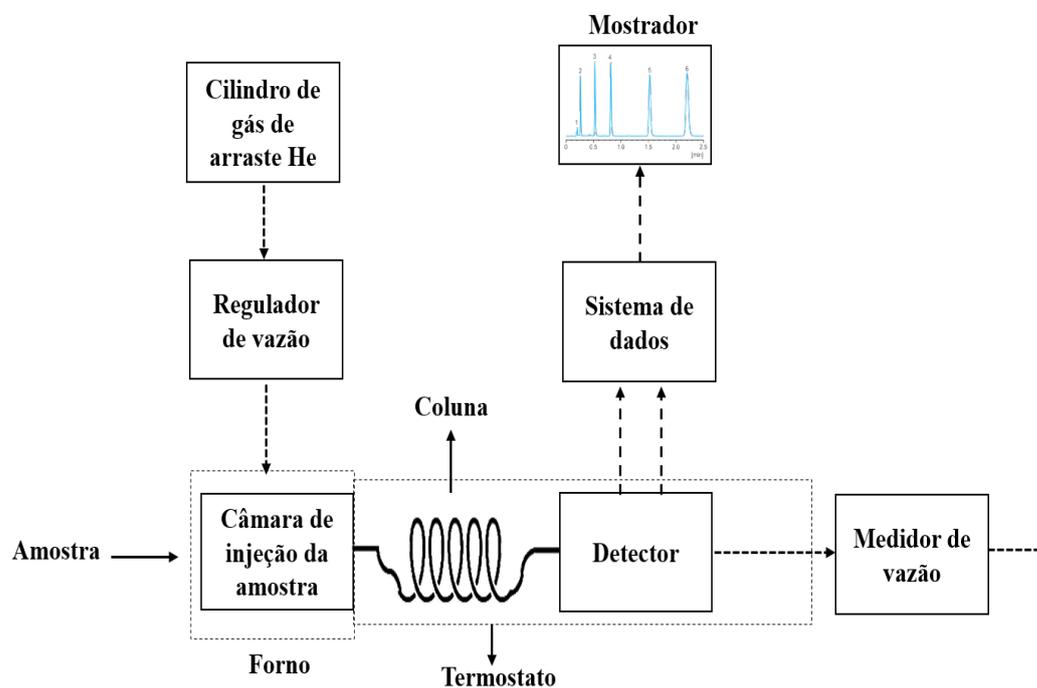
A destilação por arraste a vapor é usada principalmente para substâncias sensíveis à temperatura, sendo baseada na diferença de volatilidade de determinados compostos, consiste na passagem de uma corrente de vapor de água arrastando os voláteis do material vegetal. Esse método é muito utilizado, devido a sua simplicidade e economia (BRITO et al., 2015).

## **2.8 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas**

A cromatografia gasosa é uma das técnicas mais empregadas em análises qualitativas e quantitativas. Na cromatografia gasosa, os componentes de uma amostra vaporizada são separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. Ao realizar-se uma separação por cromatografia gasosa, a amostra é vaporizada e injetada na cabeça da coluna cromatográfica. A corrida cromatográfica é feita por um fluxo de fase móvel gasosa inerte. Em contraste, com muitos outros tipos de cromatografia, a fase móvel não interage com as moléculas do analito; sua única função é transportar o analito através da coluna (SKOOG, 2006).

A fase móvel em cromatografia gasosa é denominada gás de arraste e deve ser quimicamente inerte. O gás Hélio é a fase móvel gasosa mais comum, embora o gás nitrogênio (N<sub>2</sub>), o Argônio (Ar), sejam também empregados. Esses gases estão disponíveis em cilindros pressurizados. Reguladores de pressão, manômetros e medidores de vazão são necessários para se controlar a vazão do gás (PINHO et al., 2009).

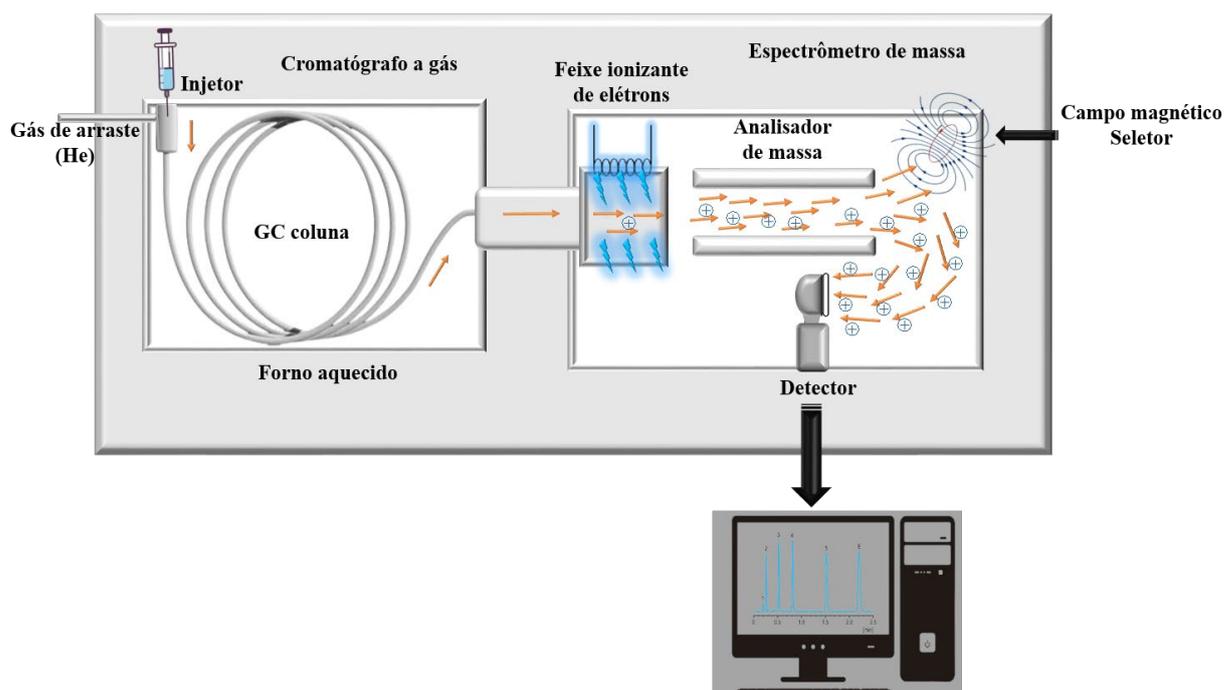
Figura 1: Diagrama esquematizado de um cromatógrafo a gás. Adaptado de SKOOG, 2006.



Fonte: Skoog, 2006.

O espectrômetro de massas tem cinco componentes, o primeiro é a unidade de entrada da amostra, que tem como papel de levar o analito até a fonte de íons, a segunda unidade, onde as moléculas da amostra são transformadas em íons em fase gasosa. Os íons são, então, acelerados por um campo eletromagnético. A seguir, o analisador de massa, terceira unidade, que separa os íons da amostra baseado em sua razão massa/carga ( $m/z$ ). Antes dos íons poderem ser formados, um fluxo de moléculas deve ser induzido na fonte de ionização, a unidade de injeção da amostra gera esse fluxo de moléculas. Quarta unidade, o detector de massas, é composto de um contador que produz uma corrente proporcional ao número de íons que o atingem (PAVIA, 2015). Na figura 2 mostra um esquema adaptado de um espectrômetro de massas.

Figura 2: Cromatógrafo acoplado a espectrometria de massas (GC/MS).



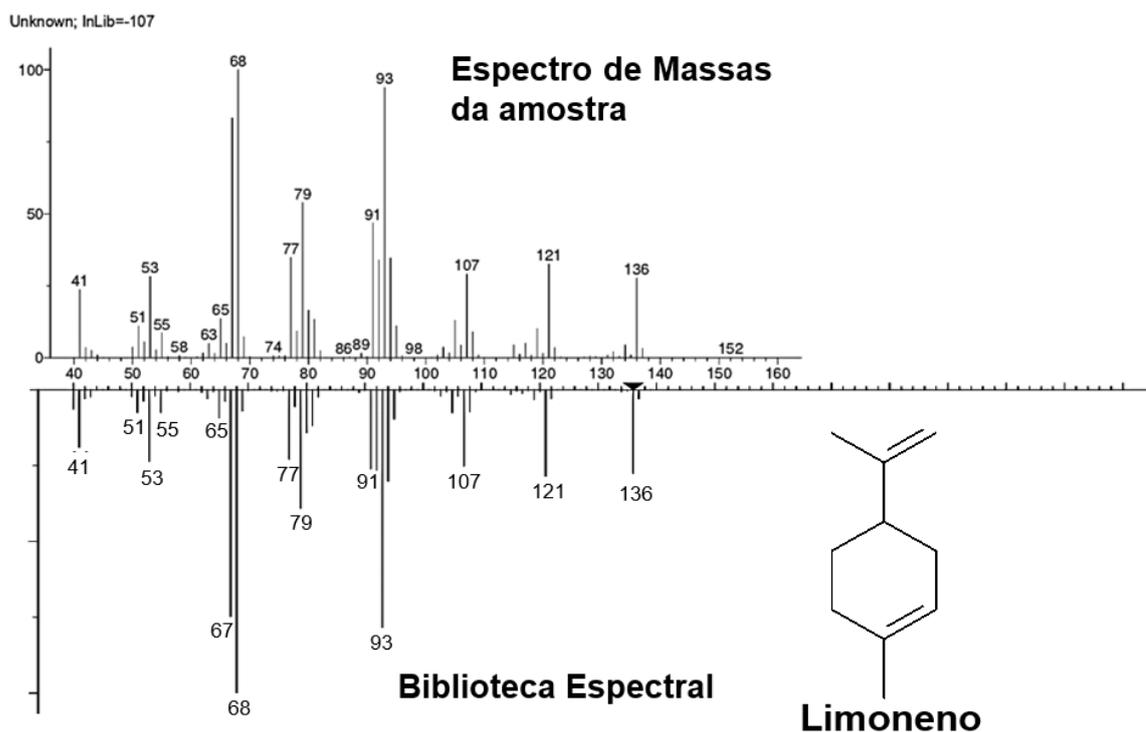
Fonte: Adaptado de Pavia, (2015) & Silverstein, (2000).

Uma amostra estudada por espectrometria de massa, deve-se converter uma quantidade suficiente da amostra em vapor para se obter um fluxo de moléculas, o qual deve fluir para dentro da câmara de ionização. Depois que o fluxo de moléculas tiver entrado no espectrômetro de massa, as moléculas da amostra devem ser transformadas em partículas (cátions) carregadas pela fonte de ionização. O método de transformação da amostra em íons é a ionização por elétrons (EI), é emitido um feixe de elétrons de alta energia a partir de um filamento aquecido. Esses elétrons de alta energia atingem o fluxo de moléculas, a colisão entre moléculas e elétrons retira um elétron da molécula, criando um cátion (+), (PAVIA, 2015).

A energia necessária para remover um elétron de um átomo ou de uma molécula é o seu potencial de ionização ou energia de ionização. A maioria dos compostos orgânicos tem energia de ionização entre 8 e 15 elétron volts (eV). Para adquirir características espectrais semelhantes, quando comparado com a base de dados eletrônica, por padrões de fragmentação, deve-se usar um feixe de elétrons padrão de 70 eV (PAVIA, 2015).

O padrão de fragmentação de uma substância é reproduzível, e está disponível na base de dados da biblioteca do próprio aparelho. Isso permite que se compare o espectro de massa de um composto da amostra, com milhares de dados de uma biblioteca espectral usando um software em um computador (figura 3).

Figura 3: Comparação do padrão de fragmentação entre amostra e biblioteca.



Fonte: Autor, 2023.

O óleo essencial, por exemplo, possui uma quantidade “x” de substâncias. Após a injeção no cromatógrafo, leva um tempo até a transformação do óleo em vapor, essa transformação vai depender das propriedades físico-químicas das substâncias. Por exemplo, substâncias mais voláteis, e de menor peso molecular, são as primeiras a se transformarem em vapor, e com o fluxo constante do gás de arraste, essas substâncias chegam primeiro até o feixe de ionização e ao detector de massas, conseqüentemente ao analisar o cromatograma, o tempo de retenção é menor para substâncias de menor peso molecular.

O feixe de ionização pode retirar elétrons em ligação pi, ligação sigma ou elétrons não ligantes (elétrons n), e forma um cátion e um radical, com razão massa/carga ( $m/z$ ) para os cátion, ou simplesmente pode ser chamado de íon molecular. A probabilidade de retirar um elétron é maior em “elétrons n”, devido a sua grande densidade eletrônica, que não está em ligação. Em seguida são os elétrons da ligação pi, por estar ligado apenas por interação magnética entre dois orbitais “p puro”. Por fim, a ligação sigma, no entanto, é a mais difícil para retirar um elétron e romper a ligação.

O feixe de ionização possui bastante energia, além de formar um cátion e um radical, ele confere mais energia ao íon molecular, então esse íon fica bastante excitado.

Esse excesso de energia faz com que algumas ligações sejam rompidas, esse rompimento das ligações é chamado de fragmentação (SILVERSTEIN 2000).

Essa fragmentação é explicada por vários mecanismos, como transferência de prótons e transferência de elétrons, isso acontece via intramolecular do íon gerado. O íon molecular absorve tanta energia que ele se fragmenta antes de chegar ao detector, gerando outros íons de menor massa formados a partir do íon molecular, é possível também que o íon molecular chegue ao detector. Diante do intervalo dos íons gerados até o detector de massas, para melhor entendimento, é necessário desenvolver proposta de fragmentação para os picos de maior abundância relativa.

A massa desses íons (cátion) é calculada a partir do impacto dos íons no detector de massas. Esses íons que chegam ao detector formam o espectro de massas. Como a fragmentação segue um padrão, é possível determinar a estrutura química da molécula comparando com uma biblioteca espectral.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Coleta e extração do óleo essencial de uma espécie de limão (*Citrus sp*) através do procedimento de destilação por arraste a vapor de água em sistema Clevenger, e analisá-lo por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS).

#### 3.2 Objetivos específicos

- Coletar as folhas e frutos do limão (*Citrus sp*).
- Obter por extração em sistema Clevenger o óleo essencial da amostra das folhas e frutos.
- Calcular o rendimento do óleo essencial obtido.
- Analisar o óleo essencial de limão (*Citrus*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.
- Realizar possíveis identificações dos compostos constituintes do óleo de folhas e frutos por GC/MS.
- Propor fragmentações de massas para as possíveis moléculas identificadas.

## 4 METODOLOGIA

O experimento dividiu-se em três etapas: (i) coleta das amostras, (ii) extração do OE por arraste a vapor de água com sistema Clevenger e (iii) análise dos compostos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

### 4.1 Materiais e Reagentes

Para as extrações e identificação dos constituintes químicos do óleo essencial de *Citrus sp.*, foram utilizados os seguintes materiais e reagentes:

- Béquer 50 e 500mL
- Balão de fundo redondo 5L
- Sistema Clevenger
- Suporte Universal
- Garra
- Manta aquecedora
- Balança analítica (SHIMADZUAUY 220)
- Balança analítica (Marte/AL 500 C)
- Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (GC modelo 7890B e MS modelo 5977)
- Papel filtro
- Tesoura
- Pinça
- Espátula
- Água destilada
- Hexano P.A
- Folhas e cascas do fruto do *Citrus sp.*
- Sulfato de sódio anidro
- Parafilm
- Papel alumínio

### 4.2 Material vegetal

Coletou-se as folhas frescas de *Citrus sp.* no Campus da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) - Araguaína – TO com as seguintes coordenadas geográficas 7°10'54.2"S 48°11'51.0"W. As folhas foram coletadas de espécie vegetal de *citrus* nativo da região, entre 8h30min e 9h30min nos dias 17/05; 24/05; 31/05 e 07/06 de 2023.

Figura 4: Limoeiro



Fonte: Autor, 2023.

Coletou-se as folhas de *Citrus sp* de forma manual, com auxílio de uma escada de alumínio. As folhas escolhidas foram sempre aquelas que ficam 20 cm acima da ponta do galho, por serem folhas maduras da planta, onde ficam depositados os metabólitos secundários já produzidos pelas plantas, as folhas mais novas continuam em processo de produção desses metabólitos (GASPARIN, et al., 2014). Antes dos procedimentos experimentais em laboratório, foram coletados os materiais vegetais, ao total de quatro coletas, sendo três coletas de folhas e uma de fruto (24/05), durante o final do período chuvoso. Após a coleta e seleção, pesou-se o material vegetal em balança semi-analítica para obtenção das massas.

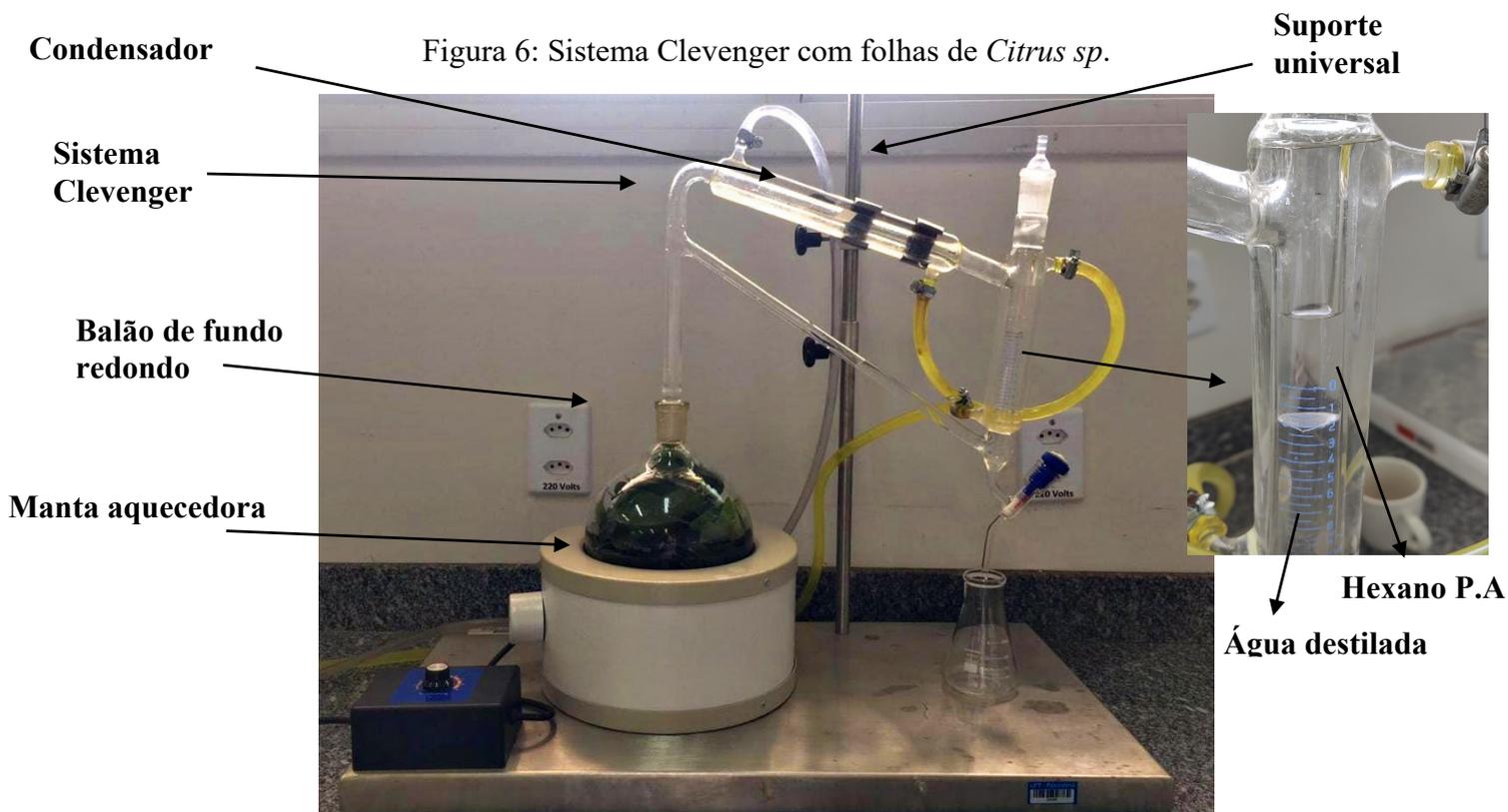
Figura 5: Folhas e frutos coletados.



Fonte: Autor, 2023.

### 4.3 Extração do óleo essencial

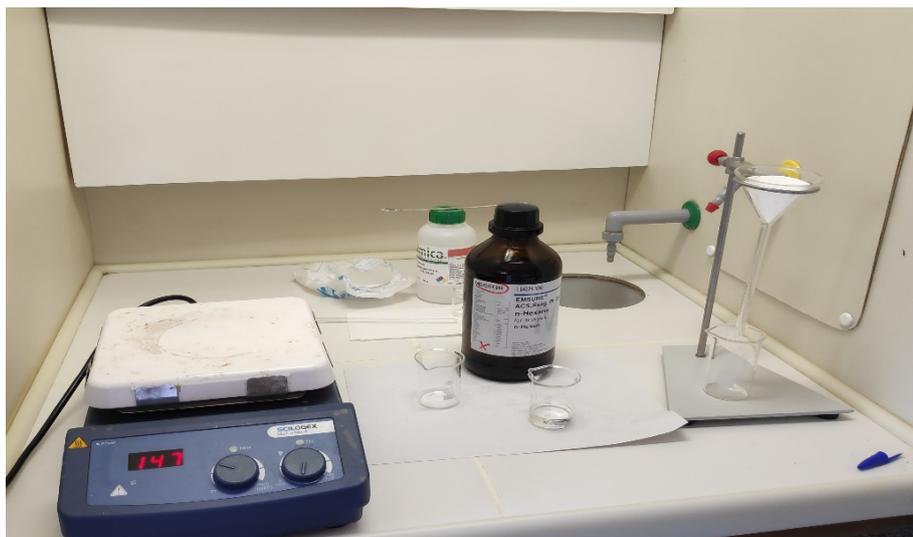
As etapas de extração por arraste a vapor de água foram realizadas em sistema Clevenger (figura 4). As folhas foram colocadas em balão volumétrico e preenchido metade do balão com água destilada. Os compostos químicos presentes nas folhas, foram extraídos por arraste a vapor. Após a condensação, o óleo era capturado por afinidade de polaridade utilizando o solvente hexano ( $C_6H_{14}$ ). Em uma parte do sistema Clevenger era perceptível duas fases entre líquidos. O solvente foi utilizado para separar a água do óleo, onde o óleo dissolvido foi recolhido em um béquer de 50 ml e a água desprezada.

Figura 6: Sistema Clevenger com folhas de *Citrus sp.*

Fonte: Autor, 2023.

Após o processo de extração por arraste de vapor considerando o tempo de destilação do óleo de três horas, adaptado de Filho (2019), para o processo de tratamento do óleo, em solução hexânica, adicionou-se o sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a fim de reter as moléculas de água residual presente na solução hexânica. Em seguida, fez-se a filtragem em papel filtro para outro béquer de 50mL, para assim retirar o sulfato de sódio da solução, o filtro e o béquer foram lavados com hexano para diminuir possíveis perdas do óleo. Em sequência, a solução foi submetida em chapa de aquecimento dentro da capela (figura 5), sempre fazendo movimentos circulares com o béquer, a fim de evaporar o solvente e manter o óleo essencial, já que ambos possuem diferentes pontos de ebulição.

Figura 7: Tratamento da amostra de óleo essencial.



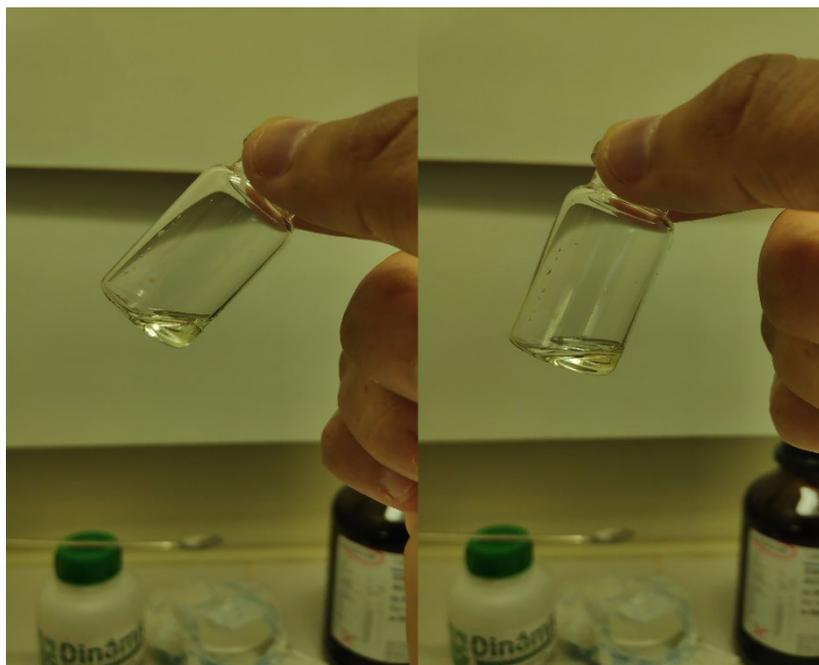
Fonte: Autor, 2023

Após a evaporação total do solvente, percebe-se a viscosidade do óleo essencial, e logo após, transferiu-se o óleo essencial para um frasco de penicilina (figura 7) e o mesmo foram devidamente lacrados com parafilm, e mantido em refrigerador, até ser submetido às análises cromatográficas, fez-se o mesmo procedimento para todas as amostras.

Figura 8: Óleo essencial de *Citrus sp.*



Figura 9: Óleo essencial de *Citrus sp* em frasco de penicilina.



Fonte: Autor, 2023

#### 4.4 Identificação dos compostos químicos por cromatografia gasosa

Com uma micropipeta, (20-200  $\mu\text{L}$ ) foi adicionada, no vial âmbar (tipo Aijiren HPLC Sample), (figura 8), uma pequena alíquota do óleo essencial de *Citrus sp* diluída em Hexano grau HPLC. O cromatógrafo utilizado da marca Agilent Technologies (modelo 7890B), com detector Agilent Technologies (modelo 5977B MSD) e coluna Agilent HP – 5MS, instalado no Laboratório de cromatografia da UFNT.

A avaliação qualitativa do óleo essencial ocorreu por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. As condições de injeção da amostra foram determinadas nas seguintes características, hélio como gás de arraste sob pressão da coluna de 80,0 psi (figura 9). O volume de 0,1  $\mu\text{L}$  da solução de óleo essencial em hexano HPLC foi injetado com temperatura do injetor de 210°C.

As condições de rampa de aquecimento, temperatura inicial do forno 50 °C durante 1 minuto, após, elevação de 50 °C para 210°C, sendo 3,5°/min, gerando um tempo total de 45 minutos de corrida e, todas foram injetadas através do modo automático do próprio aparelho. A identificação dos constituintes químicos foi realizada comparando-se à biblioteca do aparelho (Agilent Technologies).

Figura 10: Laboratório de cromatografia (LABCROM).



Fonte: Autor, 2023

Figura 11: Cilindro de gás Hélio.



Fonte: Autor, 2023

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Material vegetal e condições climáticas

As folhas de *Citrus sp* foram coletadas de espécie vegetal nativa do cerrado, existente no Campus da UFNT. Os dados climáticos do dia exato de cada coleta foram obtidos a partir da rede de computadores no site [www.weather.com](http://www.weather.com), tabela 4. As folhas do material vegetal obtido foram tratadas manualmente e selecionado as folhas que não continham manchas ou fungos possíveis de serem visto a olho nu. É importante destacar que, estamos classificando a espécie vegetal como um limão do gênero *Citrus sp*, entretanto, a espécie vegetal de onde foi coletada é conhecida popularmente como limão-cravo. Como não houve identificação botânica, não podemos afirmar. Portanto, referenciamos a espécie vegetal estudada como limão-cravo e limão-china descrita na comunidade local.

Tabela 4 - Dados climáticos das coletas.

	<b>1ª coleta</b> (Folhas)	<b>2ª coleta</b> (Folhas)	<b>3ª coleta</b> (Casca)	<b>4ª coleta</b> (Folhas)
<b>Data</b>	17/05/2023	31/05/2023	24/05/2023	07/06/2023
<b>Hora</b>	08:03 horas	08:00 horas	08:00 horas	08:05 horas
<b>Temperatura</b>	31° C	28° C	29° C	30° C
<b>Umidade relativa</b>	70%	50%	55%	60%
<b>Vel. do vento</b>	7 km/h	12 km/h	13 km/h	10 km/h
<b>Clima</b>	Nublado	Nublado	Parcialmente Nublado	Nublado

Fonte: Autor, 2023.

A tabela 4 apresenta os dados climáticos de cada coleta, no entanto, fatores climáticos podem influenciar no rendimento e composição química do óleo essencial.

Segundo estudos de Morais (2009), o cheiro característico de algumas espécies aromáticas tornam-se mais marcantes, ou seja, a concentração do óleo essencial naquele período é maior. Assim, o horário de coleta das plantas torna-se um aspecto significativo na produção de óleo essencial.

## 5.2 Análise do processo de extração e rendimento do OE

A determinação das condições de extração de óleos essenciais é uma etapa que tem que levar em consideração, pois a relação entre a composição química e a qualidade do óleo extraído é um fator definitivo.

Segundo Maul (2000), as complicações associadas ao uso de elevadas temperaturas, podem afetar os componentes químicos, fragrâncias e princípios ativos farmacêuticos termo sensíveis, e a perda de substâncias altamente voláteis, de baixo peso molecular, que não podem ser recuperados durante o processo de extração.

Um processo de hidrodestilação acelerado, pode conduzir a um produto contendo componentes mais voláteis. No entanto, uma extração demorada pode-se obter diversas substâncias diferentes na composição do óleo essencial (CHAAR, 2000).

O tempo de extração do OE de *Citrus sp*, foi de 3 horas, considerando a contagem do tempo a partir do início da condensação dos vapores, após esse tempo o sistema foi desligado. A temperatura foi levada em consideração, e a manta aquecedora foi regulada durante todos os procedimentos em escala 5, para um melhor controle no processo de destilação.

O sistema em funcionamento tem-se o vapor d'água sendo responsável por arrastar os componentes do OE presentes nas amostras de folhas e cascas do fruto, ao chegar ao condensador observa-se a formação de gotas de água e óleo. Neste processo de destilação por arraste a vapor foi utilizado hexano na parte coletora do Clevenger para capturar o óleo obtido da condensação, isto ocorre por semelhança de polaridade, portanto, passamos a ter uma solução hexânica do óleo. Ressalta-se que o hexano e água não são solúveis devido à diferença de polaridade (figura 4).

A solução hexânica foi recolhida em um béquer com tara definida. Para o tratamento da solução utilizou-se o sulfato de sódio anidro (figura 10), como agente secante para total retirada de traço de água presente na solução hexânica. Em seguida, fez-se filtração para separar o sulfato de sódio anidro que continha os traços de água provavelmente existente na solução hexânica. Após a filtração o Becker foi aquecido em uma manta manualmente, controlou-se a temperatura do Becker para que a solução não atingisse o ponto de ebulição que provavelmente propiciaria a perda de parte do óleo extraído.

Para a determinação total da retirada do solvente durante o aquecimento, apenas observaram-se as características físico-químicas e organolépticas do óleo, especialmente, a viscosidade, aroma e cor (figura 11). Após a retirada total do hexano o becker contendo

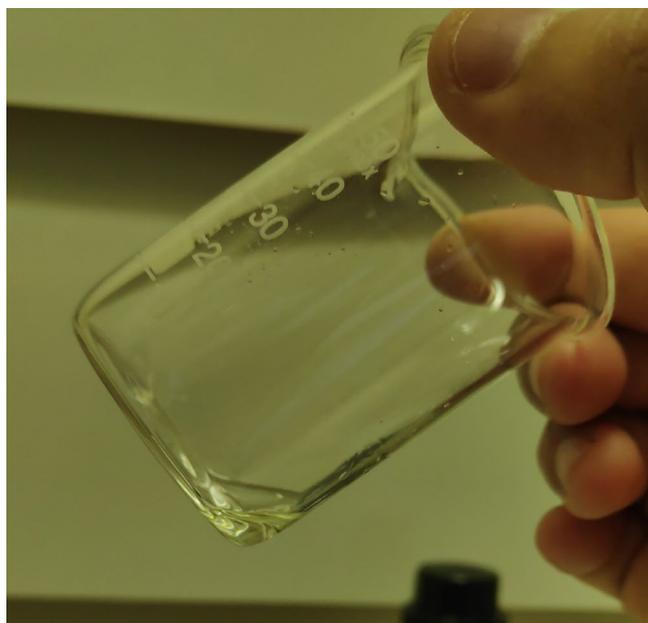
o óleo foi pesado e determinado rendimento de extração de cada amostra, seja de folhas ou casca do fruto.

Figura 12: Sulfato de Sódio Anidro P.A.



Fonte: Autor, 2023

Figura 13: Óleo essencial obtido.



Fonte: Autor, 2023

Após finalizar o processo de extração do OE das folhas e cascas dos frutos, tornou-se necessário a identificação das amostras: Mat-oleo-folhas-17-05-23; Mat-oleo-folhas-31-05-23; Mat-oleo-folhas-07-06-23; Mat-oleo-cascas-24-05-23. O cálculo do rendimento em porcentagem foi realizado segundo Zenebon et al., (2008), como a razão entre a massa do óleo e massa das folhas ou casca do fruto equação 1.

$$R(\%) = \frac{M_{\text{óleo}}}{M_{\text{folhas}}} \times 100$$

Onde:

R: rendimento da extração de óleo essencial em %;

M<sub>óleo</sub>: massa do óleo obtida em gramas (g);

M<sub>vegetal</sub>: massa das folhas frescas obtida em gramas (g).

Tabela 5 - Rendimento de óleo essencial das amostras obtidas.

Amostra	Data da coleta	Massa folhas/fruto	Massa OE	Rendimento
Mat-oleo-folhas-17-05-23	17/05/2023	195,9g	0,301g	0,15%
Mat-oleo-cascas-24-05-23	24/05/2023	103,8g	0,228g	0,21%
Mat-oleo-folhas-31-05-23	31/05/2023	164,2g	0,173g	0,10%
Mat-oleo-folhas-07-06-23	07/06/2023	200g	0,452g	0,22%

Fonte: Autor, 2023.

### 5.3 Compostos voláteis identificados no OE de *Citrus sp*

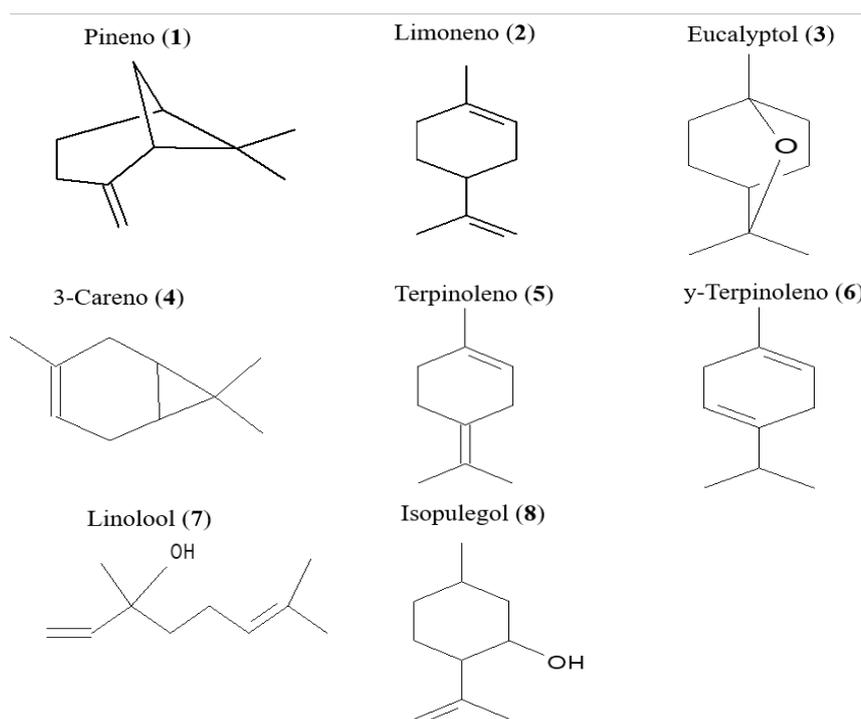
A identificação de derivados voláteis foi realizada por interpretação automatizada, comparando-se à biblioteca do aparelho (Agilent Technologies). As análises das amostras dos óleos de folhas por cromatografia gasosa, mostraram que não ocorreu variação na composição química do óleo essencial das folhas frescas de *Citrus sp*, e o OE analisado é composto por 8 componentes, tabela 6, estes foram identificados conforme metodologia descrita, adaptado de (EVERTON, 2020).

Tabela 6 - Componentes do OE das folhas frescas de *Citrus sp* detectados/identificados por CG/EM.

Pico	Componente	Tempo de retenção (min)
1	Pineno	08:26
2	D-Limoneno	10:24
3	Eucalyptol	10:35
4	3-Careno	11:11
5	Terpinoleno	11:49
6	$\lambda$ -Terpineno	11:50
7	Linolool	13:29
8	Isopulegol	15:61

Fonte: Autor, 2023.

Figura 14: Estrutura química dos constituintes identificados do OE de folhas.



Fonte: Criada no soft ChemWin, 2023.

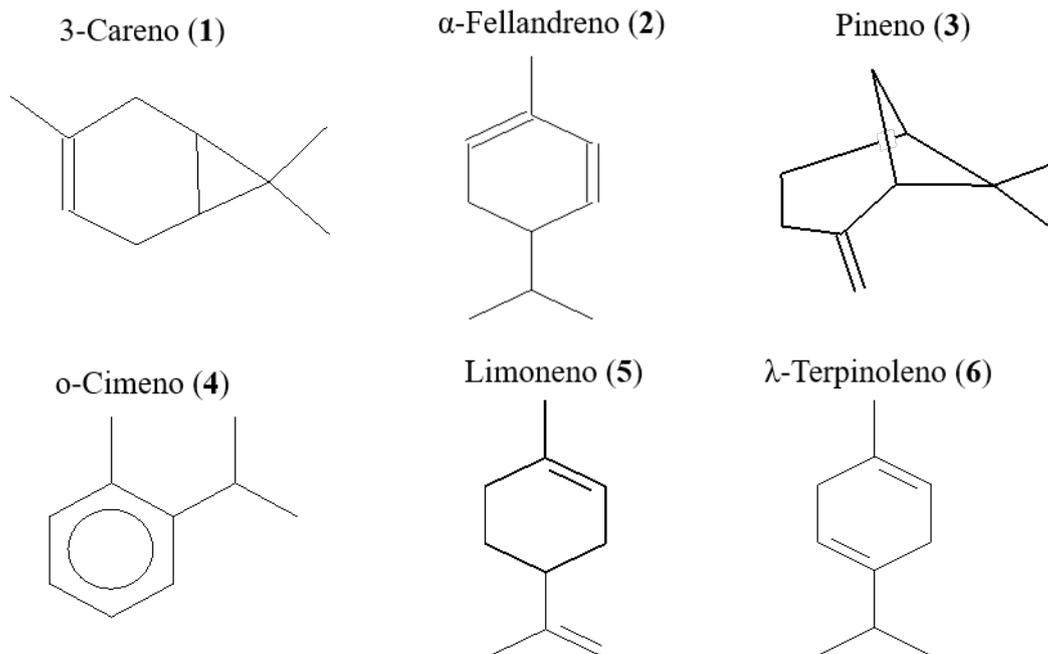
Foram identificados seis componentes presentes no OE das cascas do fruto (tabela 7), todas as substâncias são monoterpenos. Utilizou-se para identificação dos constituintes a mesma metodologia aplicada para as folhas.

Tabela 7 - Componentes do OE do fruto de *Citrus sp* detectados/identificados por CG/EM.

Pico	Componente	Tempo de retenção (min)
1	3-Careno	06:83
2	$\alpha$ -Fellandreno	08:18
3	Pineno	08:26
4	o-Cimeno	10:10
5	D-Limoneno	10:30
6	$\lambda$ -Terpineno	11:51

Fonte: Autor, 2023.

Figura 15: Estrutura química dos constituintes identificados do OE do fruto de *Citrus sp*.



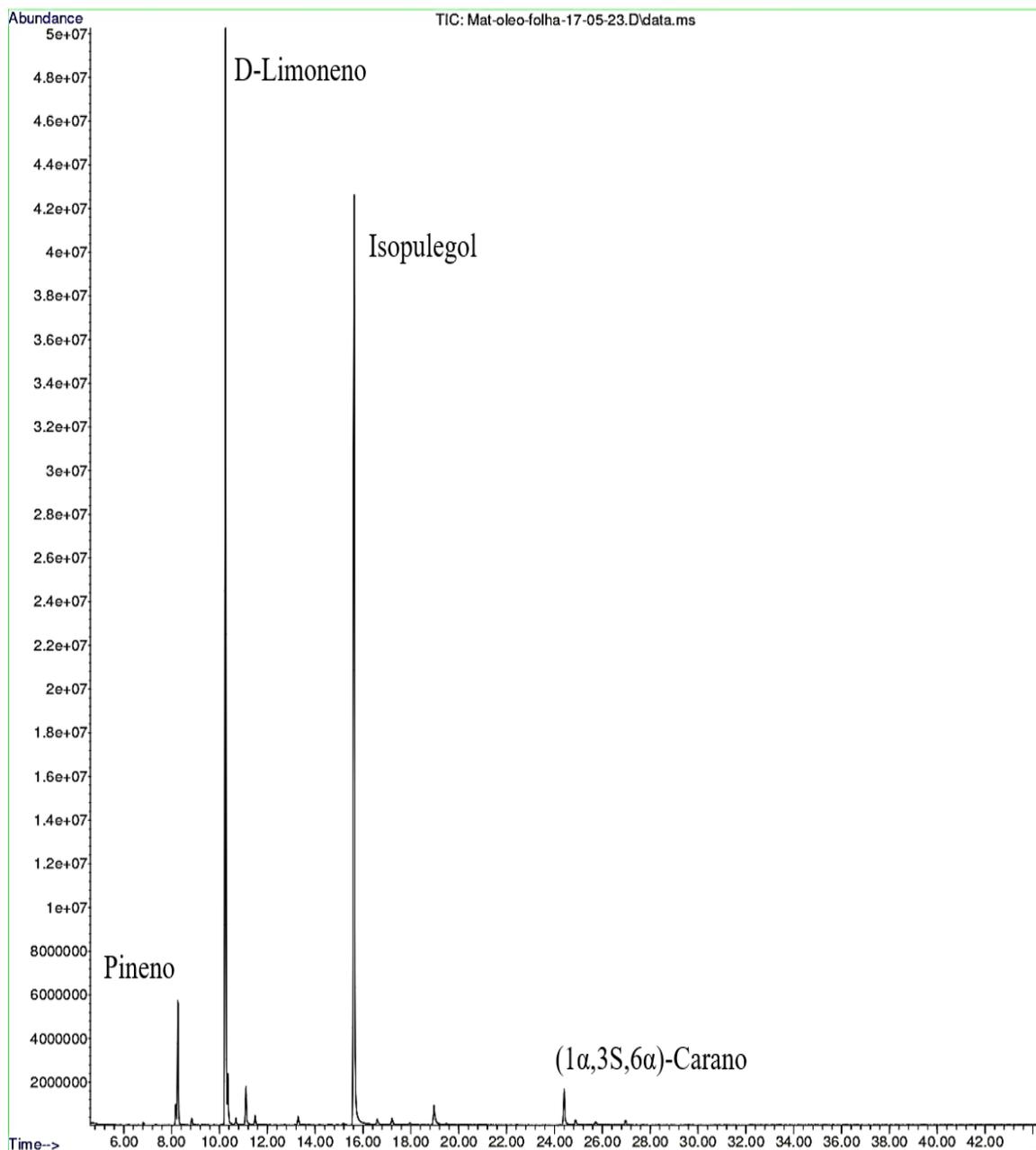
Fonte: Criada no soft ChemWin, 2023.

De um total de oito substâncias identificadas no OE das folhas frescas de *Citrus sp*, cinco são monoterpenicos e três delas são terpenoide, pois são constituídos por unidade de isopreno (Mc Murry, 2011). As substâncias Isopulegol e Linolool indicam função orgânica álcool, e o Eucalyptol um éter bicíclico. Observou-se que o óleo obtido da casca conter poucos componentes com relação ao óleo das folhas, porém, contém duas substâncias não presentes na folha que são o “o-Cimeno” e “ $\alpha$ -Fellandreno”.

O Óleo essencial em questão, apresenta perfil pouco similar a alguns OEs de *citrus* estudados por Estevam (2017), porém os componentes majoritários apresentam similaridades.

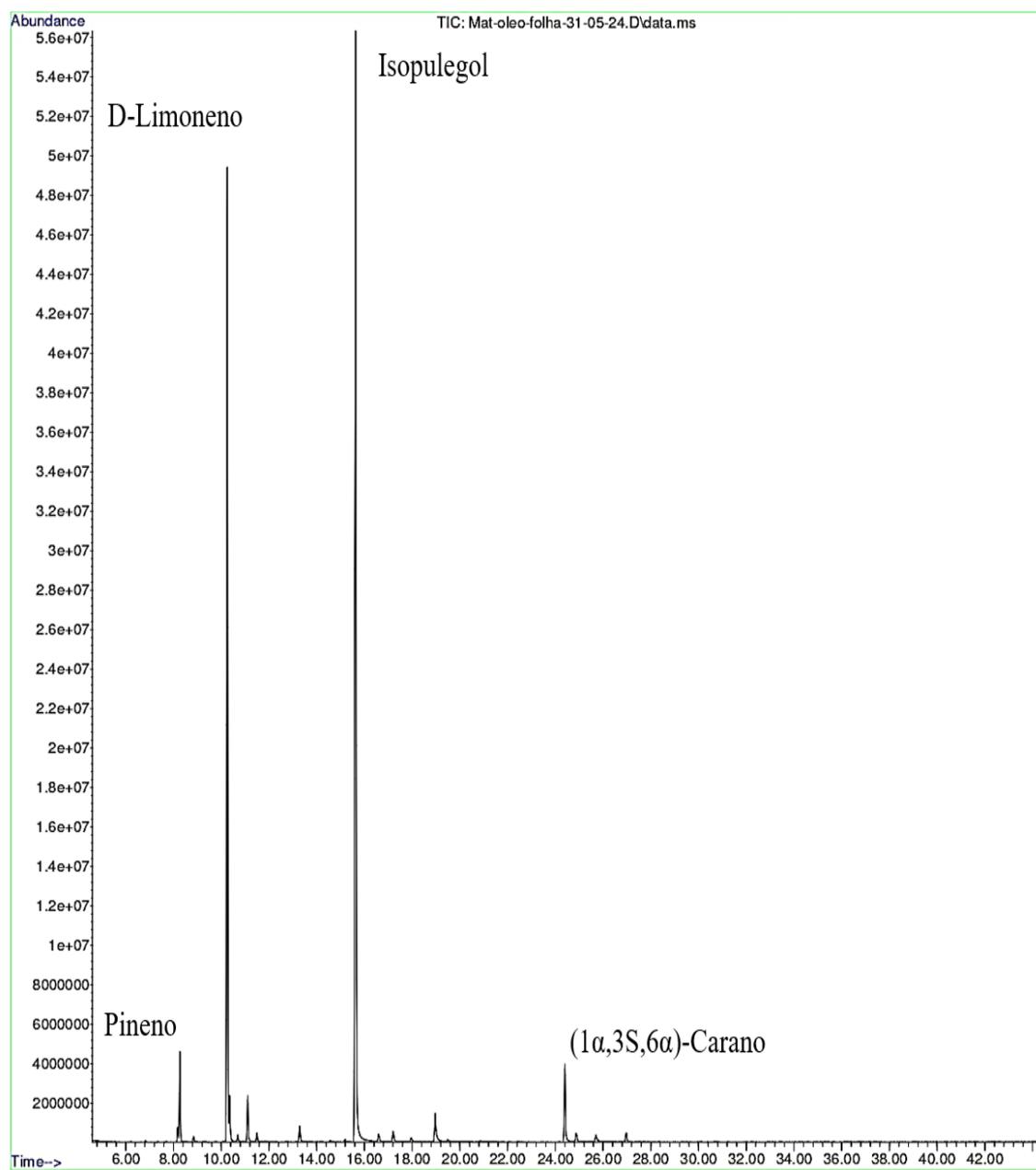
A cromatografia gasosa apresenta os constituintes do óleo das folhas com seu referido tempo de retenção como também a proporcionalidade de concentração. (Figuras 14, 15 e 16).

Figura 16: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-17-05-23.



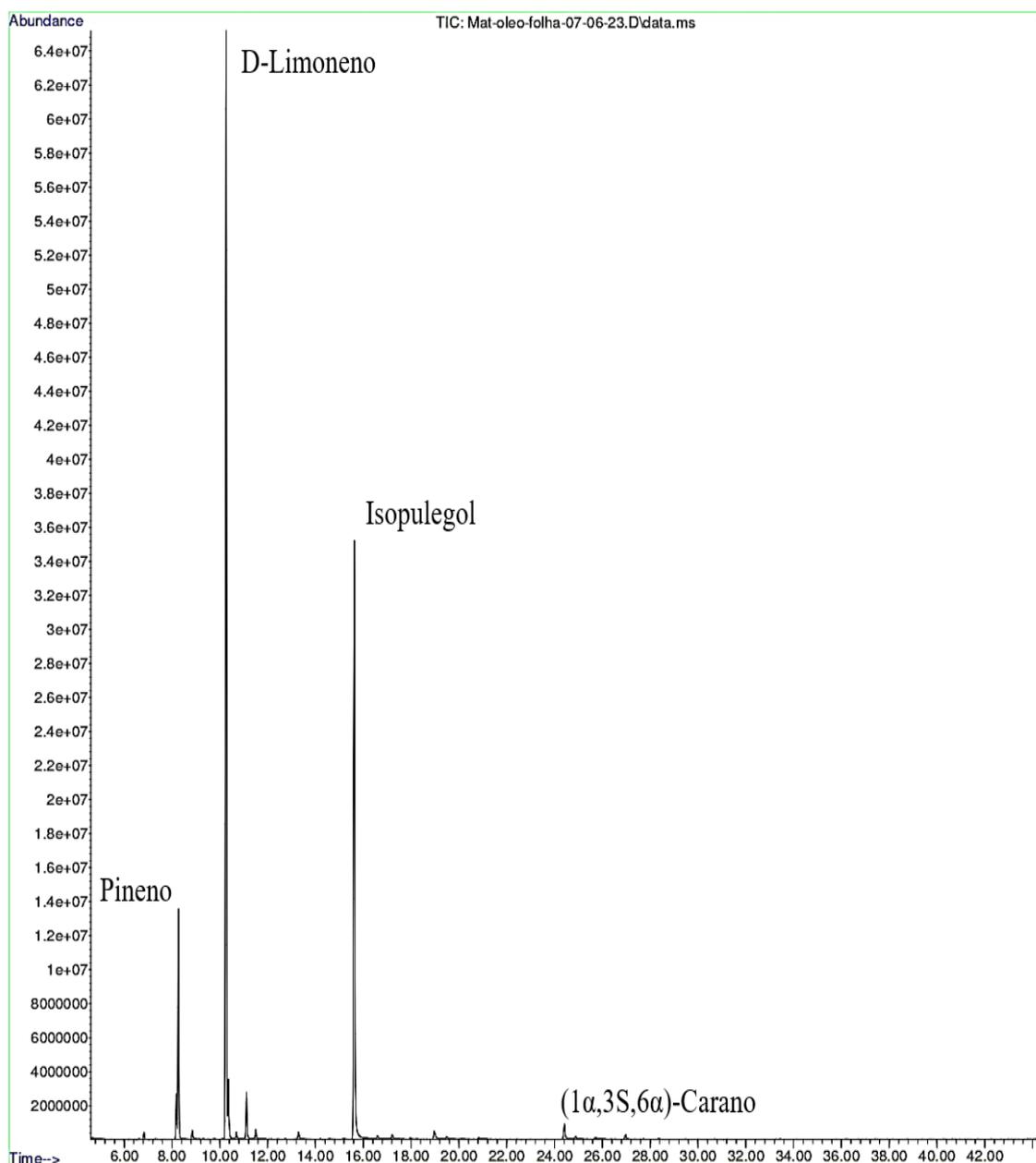
Fonte: Autor, 2023

Figura 17: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-31-05-23.



Fonte: Autor, 2023

Figura 18: Cromatograma da amostra Mat-oleo-folha-07-06-23.



Fonte: Autor, 2023

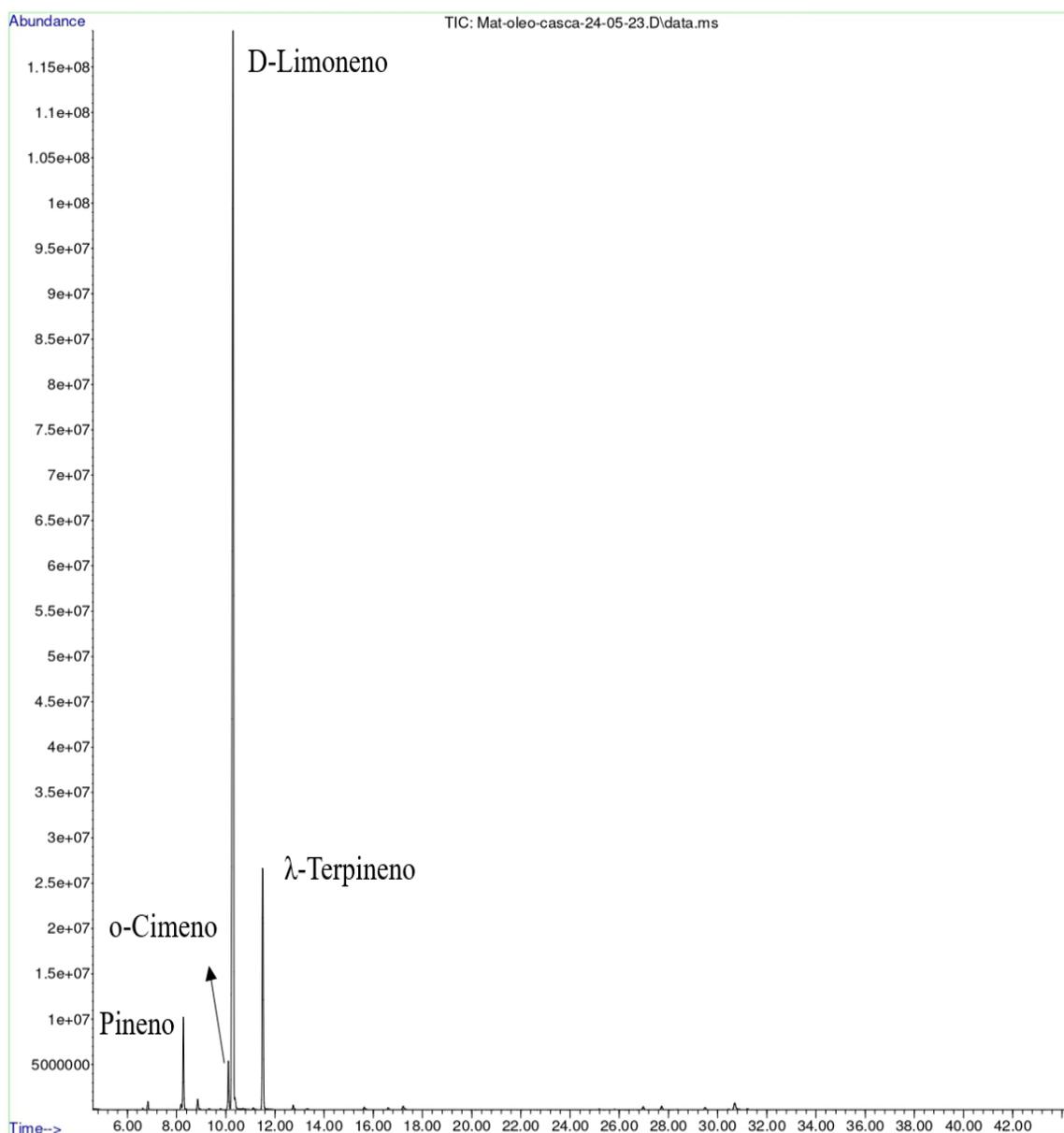
Os constituintes majoritários observados nos cromatogramas do OE das folhas de *Citrus sp*, comparados com a literatura, observa-se a presença do limoneno como composto majoritário da mistura de monoterpenos do óleo essencial (CAMPELO et al., 2013). Os monoterpenos são descritos como componentes importantes, e são frequentemente encontrados em abundância nos OEs de frutas cítricas e outras plantas (FELIPE & BICAS, 2017).

Ao analisarmos o cromatograma resultante da extração das cascas do *Citrus sp* amostra Mat-oleo-casca-24-05-2023, Figura 17, os constituintes caracterizados no total

de 6 substâncias (tabela 7), ao compararmos com a literatura observou-se similaridade entre (Limoneno, 3-Careno, Pineno,  $\lambda$ -Terpineno) e os constituintes do OE extraído das cascas do fruto de “limão-china” obtido por Menezes (2021).

O OE em questão, apresenta apenas duas substâncias distintas identificadas no cromatograma, em comparação com os componentes do OE extraído das folhas frescas de *Citrus sp.*

Figura 19: Cromatograma da amostra Mat-oleo-casca-24-05-23.



Fonte: Autor, 2023

Nosso estudo foi comparativo entre os resultados obtidos do aparelho e a literatura vigente. Os dados da espectrometria de massas analisados pelo banco de dados de compostos da biblioteca do massas (Agilent Technologies).

## 5.4 Caracterização dos constituintes do óleo da folha

### Espectro de massas

As análises de espectrometria de massas são baseadas na ionização dos compostos presentes na amostra. Os íons (cátions) gerados nesse processo são separados em um analisador de massas que relaciona massa carga ( $m/z$ ), e detectados. A proporção do sinal elétrico que é gerado em função da razão da massa-carga, é convertida por um processador de dados obtendo o espectro de massa correspondente. Cada componente presente na amostra é fragmentado de uma forma específica de acordo com sua estrutura química, originando o espectro particular, permitindo a identificação a partir da comparação com espectros presentes na biblioteca do sistema (SKOOG, 2002).

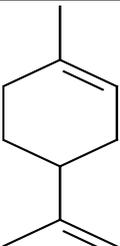
As fragmentações propostas para o espectro de massas obtido estão dispostas a seguir e foram desenhadas utilizando o software Chem Windows para uma melhor organização e interpretação das informações.

Os dados obtidos dos componentes detectados, encontra-se na biblioteca Nist do (Agilent Technologies). Os espectros e propostas de fragmentações oriunda de pesquisa na literatura e propostas pelos autores.

No quadro 1 tem-se os dados da molécula do Limoneno obtido no óleo essencial, na figura 18 tem-se o espectro de massas.

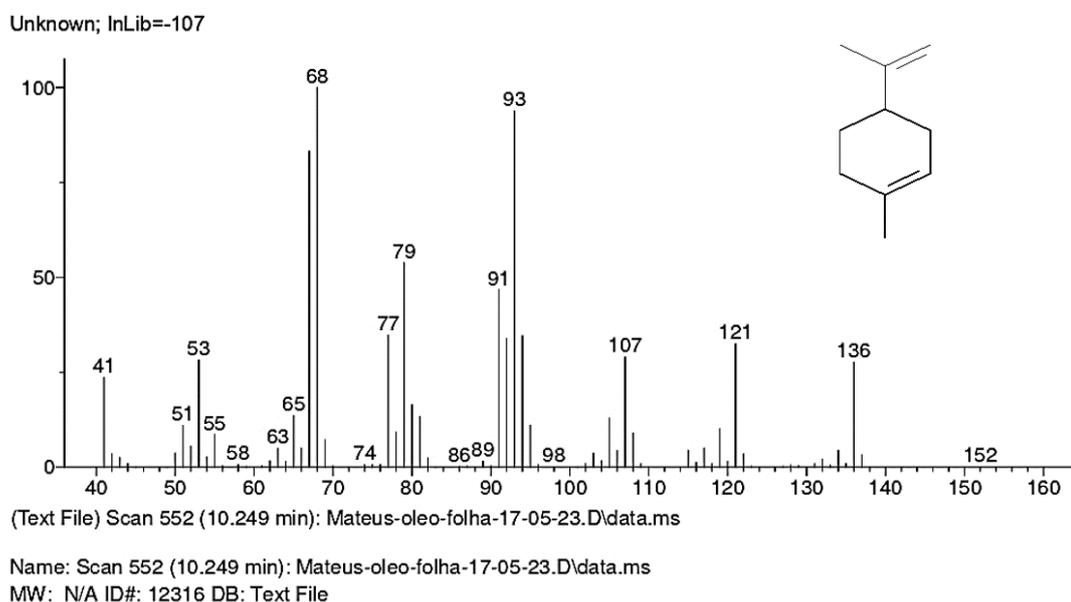
### Espectro de Massas

Quadro - 1 Dados do componente Limoneno

	Nomenclatura IUPAC: 1-Cyclohexene, 1-methy-4-, 1-methylene,2-mentha-1, 8-diene
	Nome usual: Limoneno
	Fórmula molecular: C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
	Peso molecular aproximado: 136 g/mol

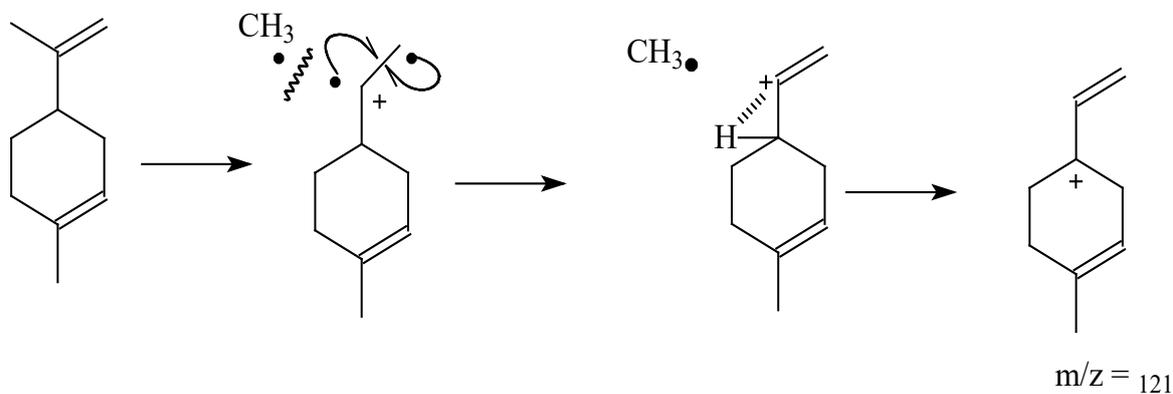
Fonte: IUPAC.

Figura 20: Espectro de Massas do componente D-Limoneno (Tr = 10:24 min)



Propostas de fragmentações existente na literatura para o limoneno Figura 19 e 20

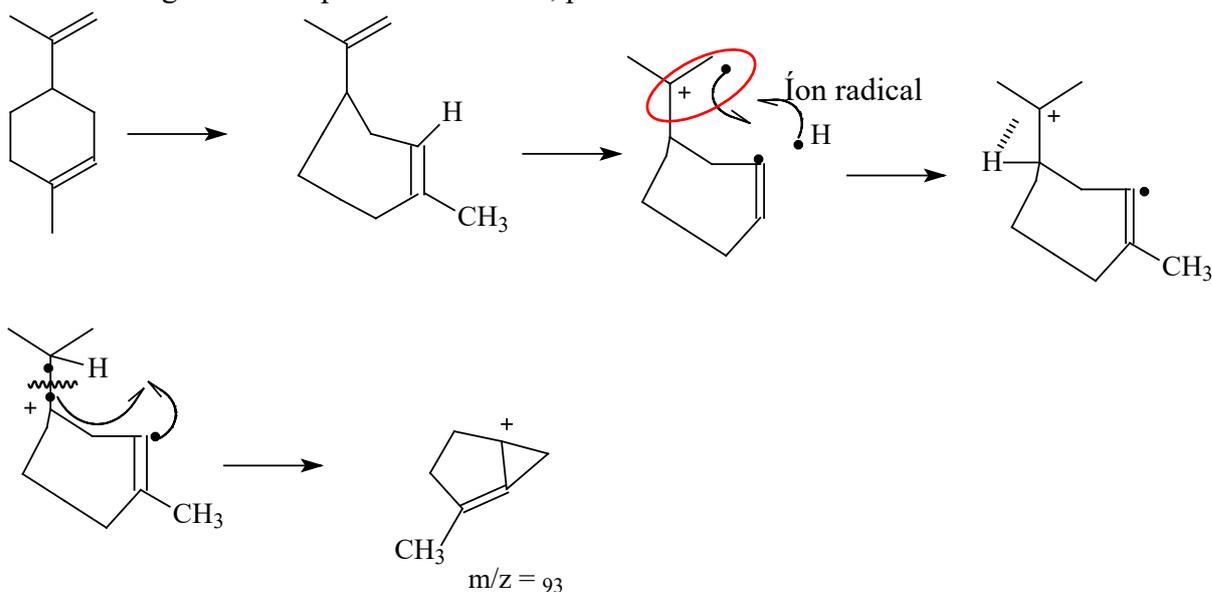
Figura 21: Proposta de fragmentação do  $m/z=121$ , à partir do íon molecular M 136



Fonte: Mazzinghy (2021)

No pico  $m/z = 121$ , a metila é retirada na forma de radical, com o rearranjo do hidrogênio, a carga (+) localiza-se em um carbono terciário. Trata-se de um clássico da literatura, como podemos verificar nas propostas de fragmentações, segundo: Silverstein (2000) & Pavia (2015).

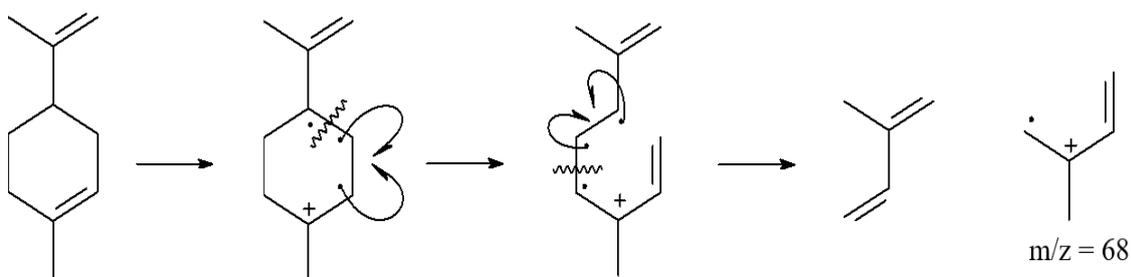
Figura 22: Proposta de  $m/z = 93$ , partindo do íon molecular  $M^+ 136$



Fonte: Mazzinghy (2021)

No pico  $m/z = 93$ , após a conformação do limoneno, um elétron é retirado, formando um cátion e um radical, o radical se emparelha com o elétron do hidrogênio, e o cátion se rearranja para uma condição mais estável, e o radical se combina com o elétron do carbono, rompendo a ligação carbono-carbono, formando o  $m/z = 93$ .

Figura 23: Proposta de fragmentação do pico  $m/z = 68$ .



Fonte: SILVERSTEIN (2000).

Os alcenos cíclicos geralmente apresentam um pico de íon molecular distinto. Um modo único de clivagem, é a reação retro-Diels-Alder. Essa reação é ilustrada com D-Limoneno, figura 21. Uma reação retro-Diels-Alder neste exemplo dá duas moléculas de isopreno. Como resultado da fragmentação, libera uma molécula neutra, e o pico  $m/z = 68$ .

### Ação farmacológica do Limoneno.

O limoneno é encontrado em diversas plantas, sua utilização para produção de repelentes e sabonetes estão sendo umas das alternativas naturais para diminuição dos resíduos gerados em grande escala (SOUZA, S. 2010). Segundo os estudos de TAVARES, et al., (2018), usou limoneno como base para produção de repelentes. Os testes foram feitos, por exposição de mãos aos mosquitos (*Aedes aegyti*), os autores concluíram que o limoneno possui ação repelente.

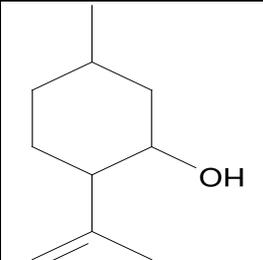
Os estudos de Campelo (2013), teve como base, a administração de óleo essencial de *citrus limon*, D-Limoneno como componente majoritário, testes feitos em camundongos por via oral durante 30 dias. Os resultados mostram que a administração oral por 30 dias, com o óleo essencial, de forma geral, não produziu efeitos tóxicos em camundongos Swiss adultos.

Nascimento et al., conduziu estudos experimentais para avaliar os efeitos cardiovasculares e a potencial resposta antiarrítmica produzidos pelo D-limoneno em ratos (ALVES; SILVA, 2019).

O tratamento com D-Limoneno é eficaz para reduzir a hiperglicemia e a glicação protéica de animais com diabetes. O D-Limoneno se mostrou atuante na melhora de diversos parâmetros, além disso, demonstraram aumento na defesa antioxidante plasmática, eritrocitária em diversos tecidos. A perspectiva sobre o estudo do D-Limoneno e seus efeitos antidiabéticos reside na pesquisa com doses baixa em comparação com as estudadas (VIANA, et al., 2022).

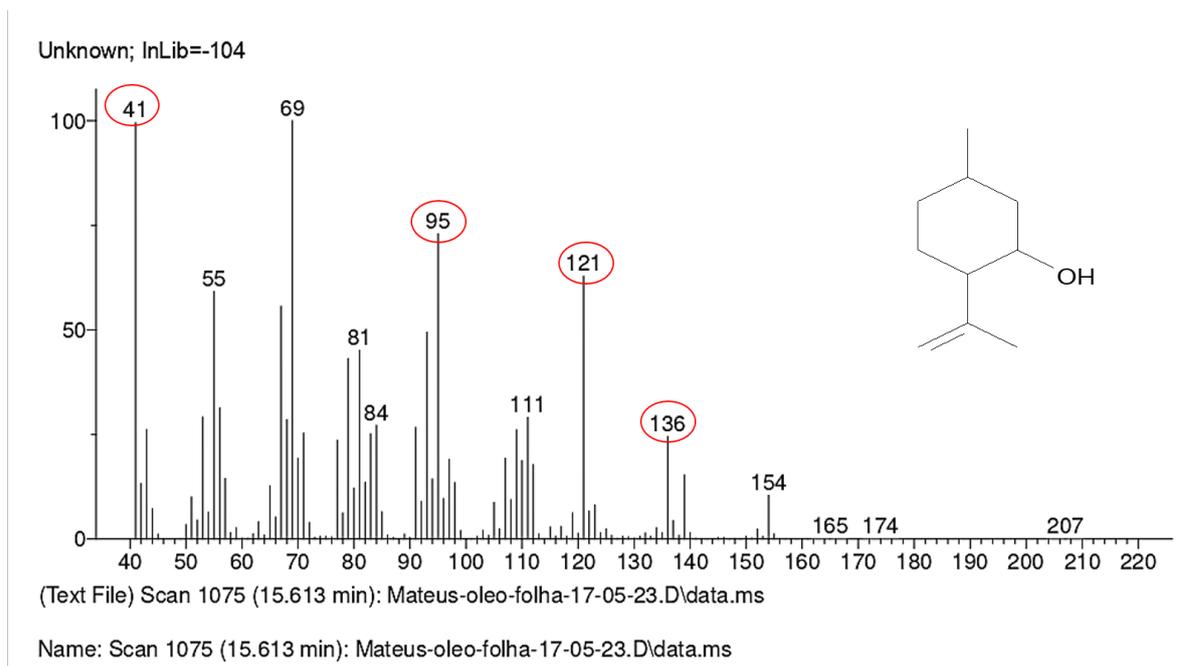
No quadro 2 tem-se os dados da molécula do isopulegol obtido no óleo essencial, na figura 22 tem-se o espectro de massas, proposta de fragmentação para a molécula do isopulegol íon  $m/z = 136$  e  $121$  Figura 23,  $m/z = 95$  figura 24,  $m/z = 41$  figura 25.

Quadro - 2 Dados do componente Isopulegol

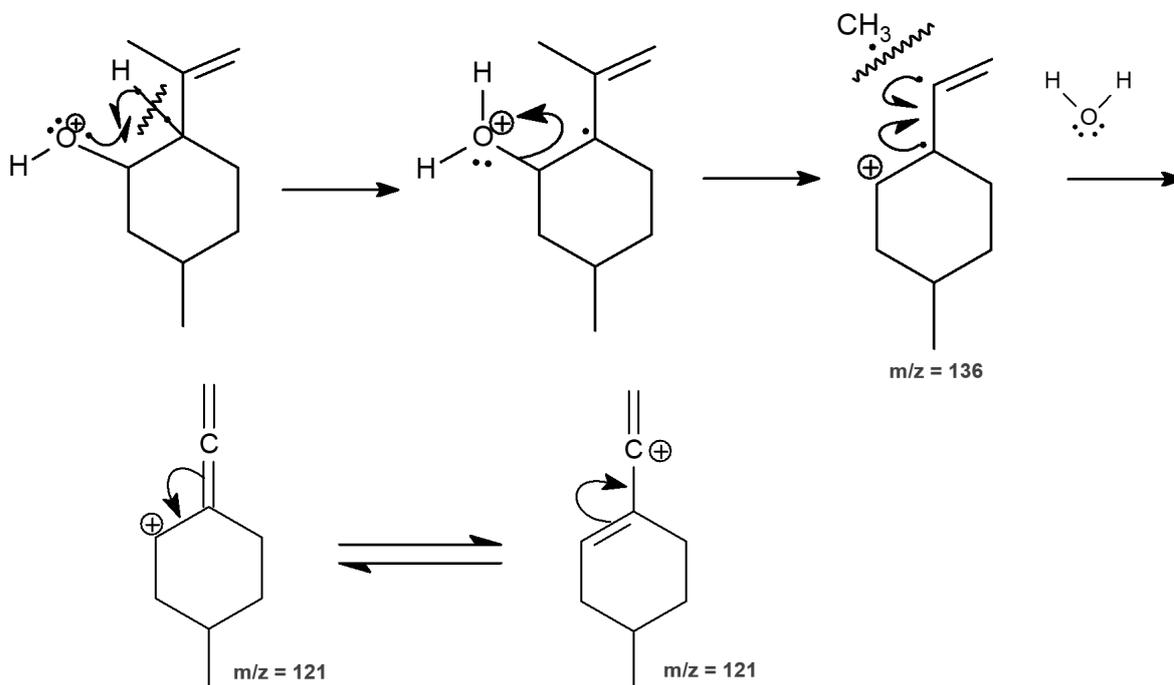
	Nomenclatura IUPAC: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl) -, [1R-(1 $\alpha$ ,2 $\beta$ ,5 $\alpha$ )] 2.p-Menth-8-en-3-ol.
	Nome usual: Isopulegol
	Fórmula molecular: C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
	Peso molecular aproximado: 154 g/mol

Fonte: IUPAC.

Figura 24: Espectro de Massas do componente Isopulegol (Tr = 15:61 min)



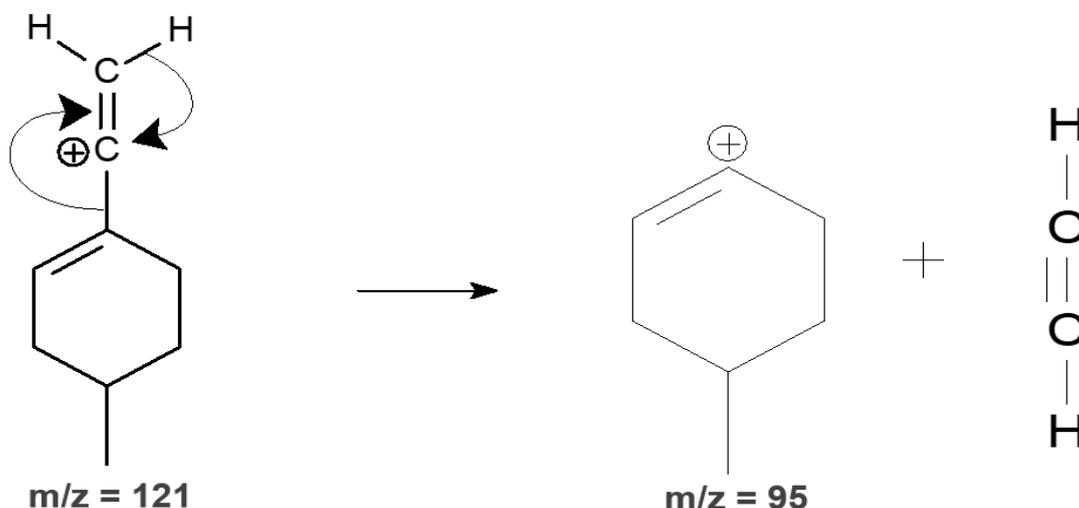
Fonte: Autor, 2023

Figura 25: Proposta de fragmentação própria do autor do  $m/z = 121$ , à partir do íon molecular

Após a retirada de um elétron no átomo de oxigênio, forma-se um cátion radical, o radical combina-se com o elétron do hidrogênio, rompendo ligação carbono-hidrogênio. A condição de cátion no átomo de oxigênio é neutralizada pela saída de água, quebrando a ligação oxigênio-carbono, com a saída da água, forma-se o pico  $m/z = 136$ . O pico  $m/z = 136$ , rearranja-se para uma condição mais estável, liberando a metila radical, formando

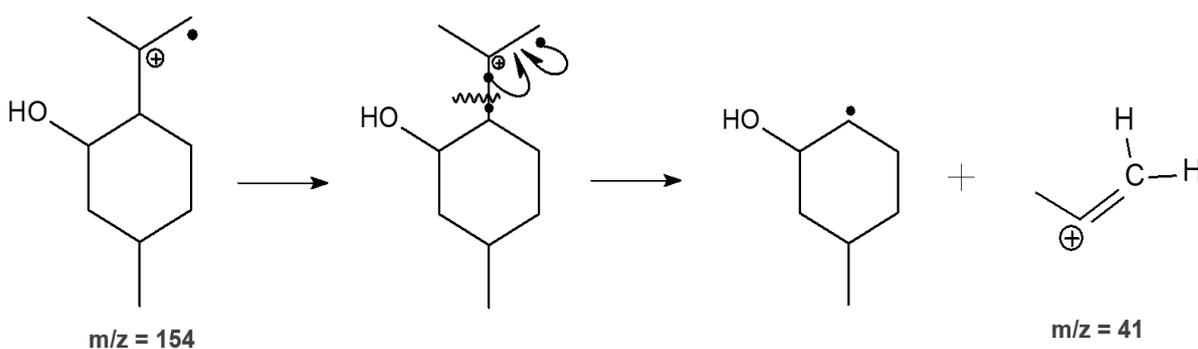
o pico  $m/z = 121$ , no entanto, para uma condição mais estável, a carga (+) é estabilizada por ressonância.

Figura 26: Proposta de fragmentação própria do autor do  $m/z = 95$ , partindo do pico  $m/z = 121$



O pico  $m/z = 95$  é formado a partir do  $m/z = 121$ , onde, para neutralizar a carga, um par de elétron entre carbono-carbono é rearranjado formando uma tripla ligação, liberando molécula neutra, acetileno ( $C_2H_2$ ), e estabelecendo o pico  $m/z = 95$ .

Figura 27: Proposta de fragmentação própria do autor do  $m/z = 41$ , partindo do íon molecular



Um elétron é retirado na instauração, formando um íon radical, esse radical emparelha com o elétron do carbono vizinho formando o pico  $m/z = 41$ .

#### Ação farmacológica do Isopulegol.

O óleo essencial contendo isopulegol como composto majoritário apresentou efeito antioxidante, ansiolítico, antinociceptivo, anti-hiperalgésico, anticonvulsivo e

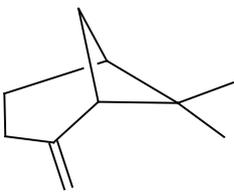
atividade sedativa em camundongos, além de propriedades antioxidantes (PROSPERO, 2019).

O isopulegol apresentou atividades anticonvulsivante e bioprotetora contra convulsões, também apresentou efeito ansiolítico, mostrou efeito gastoprotetor em camundongos (SILVA et al., 2009).

Pesquisas relacionadas, sobre atividades farmacológica do isopulegol, apontam o potencial terapêutico da substância, principalmente como protetor mucomembranoso, anti-inflamatório, antiparasitário e antifúngico (SOUSA et al., 2020).

No quadro 3 tem-se os dados da molécula do Pineno obtido no óleo essencial, na figura 26 tem-se o espectro de massas, proposta de fragmentação para a molécula do Pineno pela literatura, figura 27 e 28.

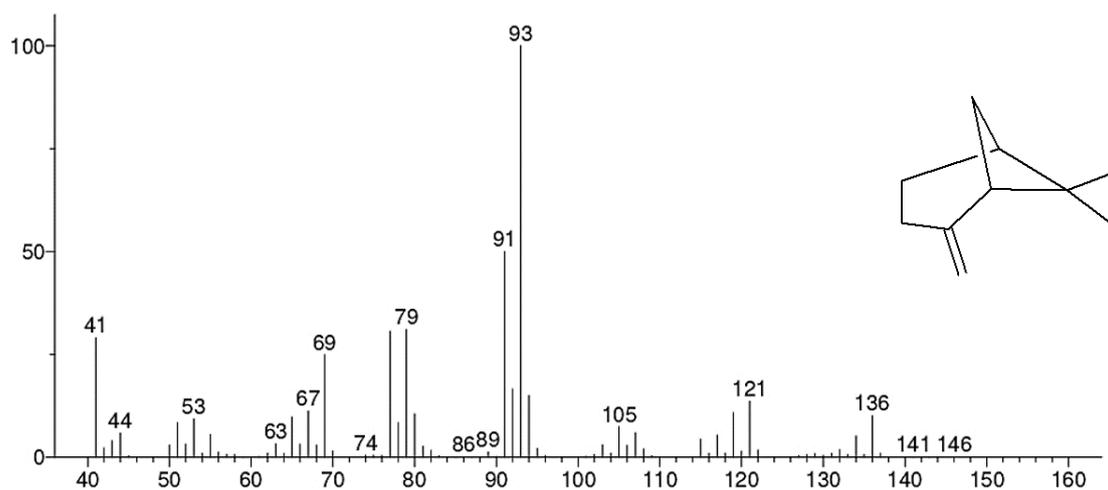
Quadro - 3 Dados do componente Pineno

	Nomenclatura IUPAC: Bicyclo [3.1.1]heptene, 6,6-dimethyl, 2-methylene-2.2(10)-Pinene
	Nome usual: Pineno
	Fórmula molecular: C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
	Peso molecular aproximado: 136 g/mol

Fonte: IUPAC.

Figura 28: Espectro de Massas do componente Pineno (Tr = 08:26 min)

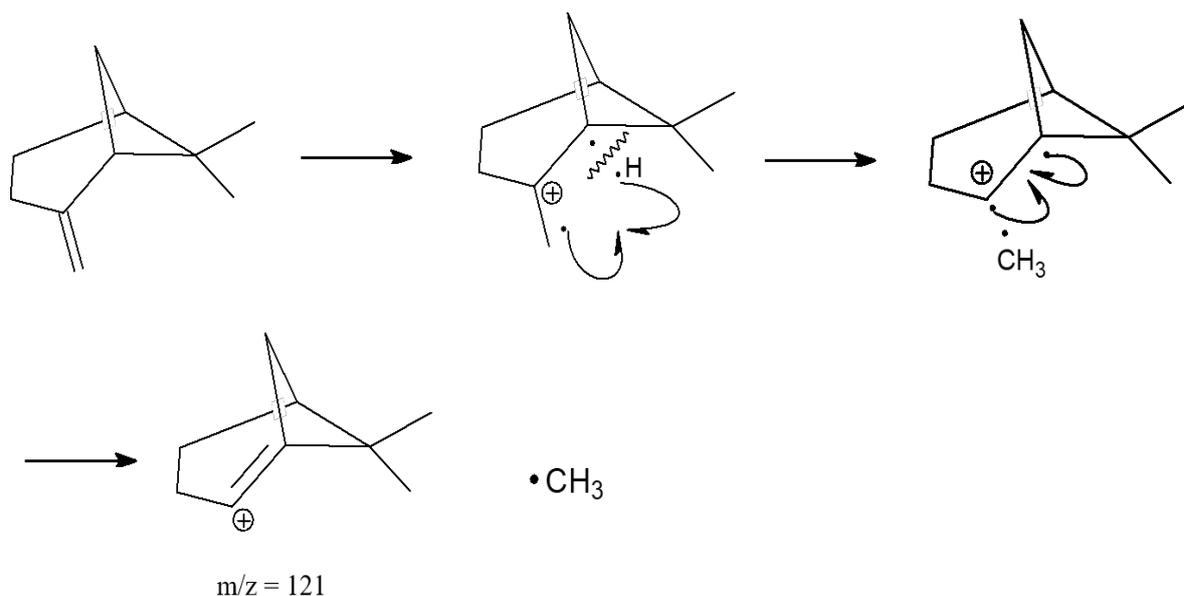
Unknown; InLib=-122



(Text File) Scan 359 (8.269 min): Mateus-oleo-folha-17-05-23.D\data.ms

Fonte: Autor, 2023

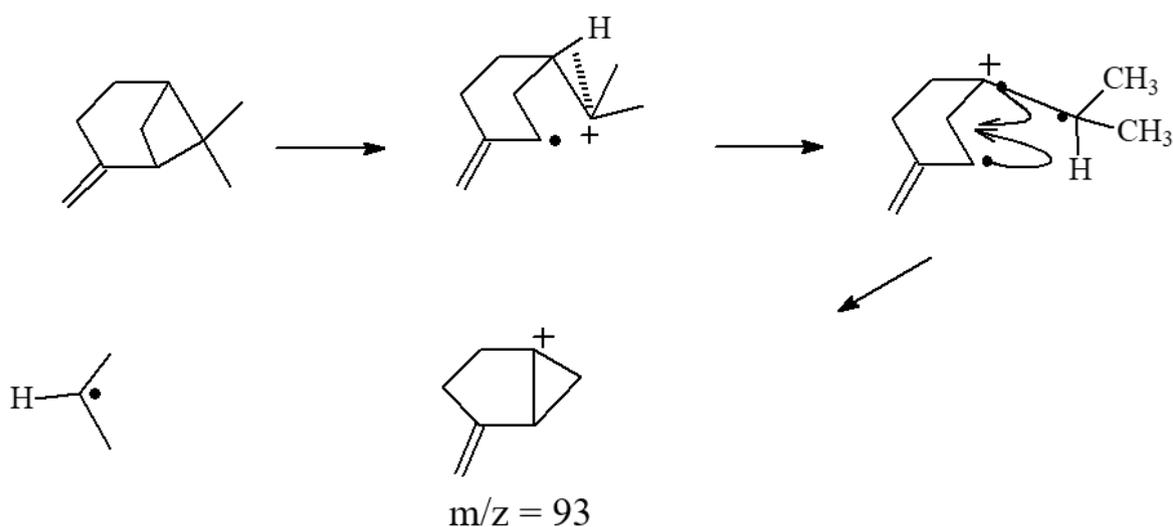
Figura 29: Proposta de fragmentação do  $m/z = 121$ , à partir do íon molecular



Fonte: Mazzinghy (2021)

Logo após a ionização, gera um cátion radical, rompendo a ligação pi, a carga em questão, localiza-se em um carbono terciário e o radical emparelha-se com o elétron do hidrogênio vizinho, rompendo ligação carbono-hidrogênio, o radical do carbono emparelha-se com elétron do carbono vizinho, liberando a metila na forma de radical.

Figura 30: Proposta de fragmentação do  $m/z = 93$ , à partir do íon molecular



Fonte: Mazzinghy (2021)

Um elétron é retirado, gerando cátion radical, o hidrogênio é rearranjado (figura 21), e o radical se emparelha com o elétron do carbono vizinho, rompendo o grupo  $C_3H_7$  na forma de radical.

### Ação farmacológica do Pineno

O pineno, é um dos compostos majoritários presente em alguns OE, com atividade antimicrobiana e destacam-se como fontes favorável de agentes naturais antimicrobiano (Aparicio-Zambrano et al., 2019). Estudos de Zamyad et al. (2019), indicam que o pineno, em partes, é responsável pela indução dos efeitos anticonvulsivantes e antioxidantes em ratos. O pineno, constituinte do óleo essencial de diversas plantas, apresentam efeito procinético em ratos, e atividade miorelaxante em tecidos (JUCÁ, 2007).

### 5.5 Caracterização dos constituintes do óleo do fruto

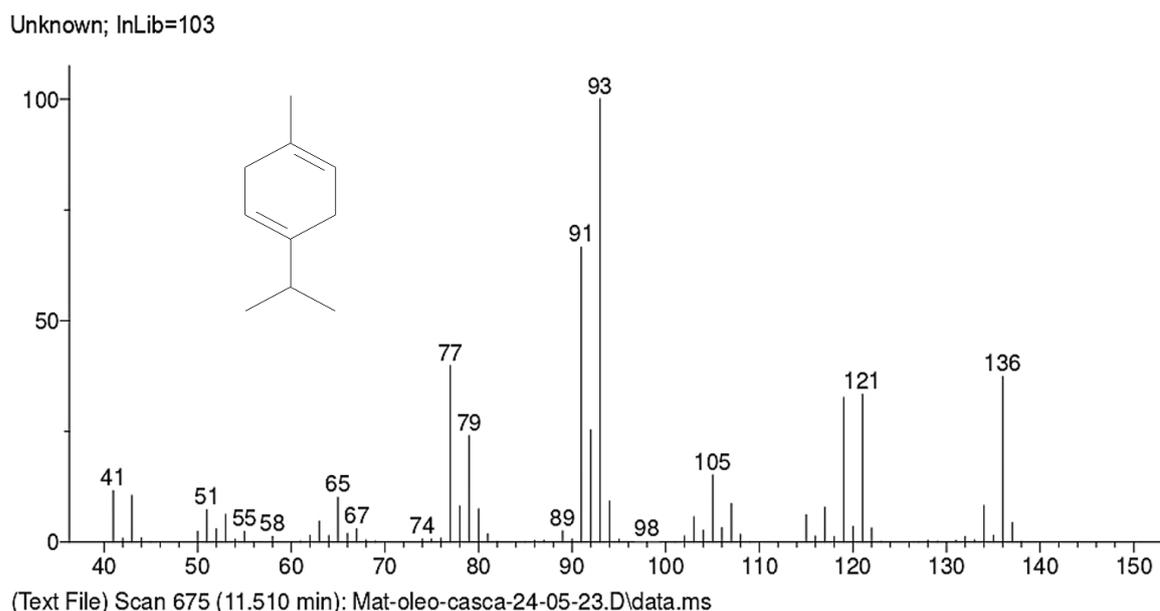
No quadro 4 tem-se os dados da molécula do  $\lambda$ -Terpineno obtido do óleo essencial, na figura 29 tem-se o espectro de massas, proposta de fragmentação para a molécula do  $\lambda$ -Terpineno íon  $m/z = 93$  Figura 30.

Quadro - 4 Dados do componente  $\lambda$ -Terpineno

	Nomenclatura IUPAC: 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene
	Nome usual: $\lambda$ -Terpineno
	Fórmula molecular: C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
	Peso molecular aproximado: 136 g/mol

Fonte: IUPAC.

Figura 31: Espectro de Massas do componente  $\lambda$ -Terpineno (Tr = 11:51 min)

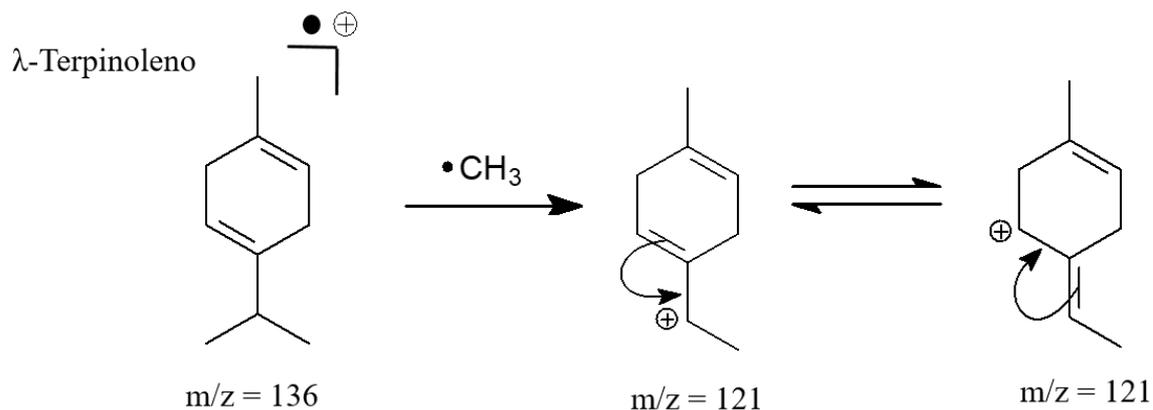


Fonte: Autor, 2023

### Propostas de fragmentações

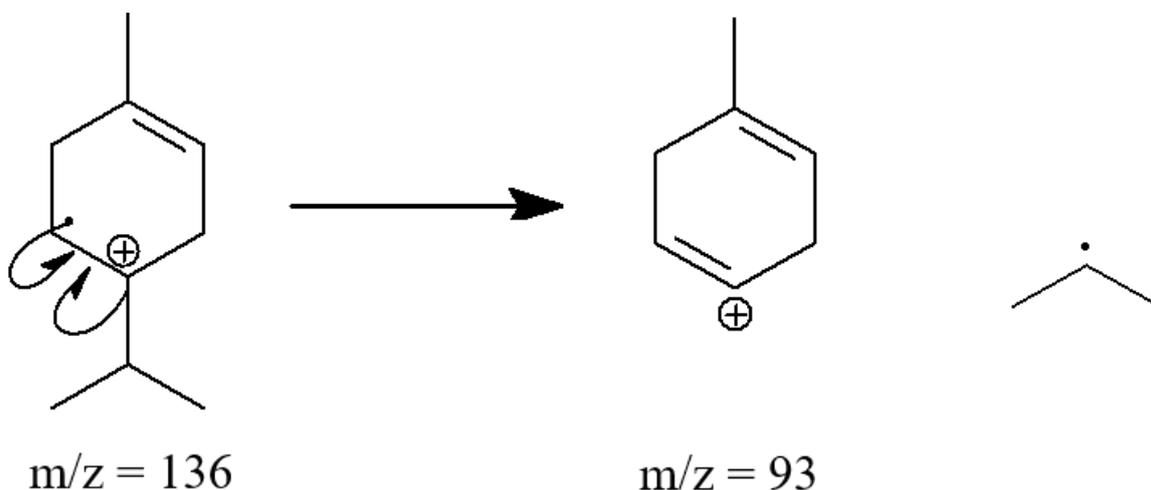
Segundo estudos de Alves (1998), a abundância relativa do íon  $m/z$  121 não é tão pronunciada para o  $\lambda$ -Terpineno (27%), embora expresse conjugação com uma dupla ligação, a estrutura química apresenta menor número de estruturas de ressonância.

Figura 32: Proposta de fragmentação de Alves (1998), do  $m/z = 121$ , à partir do íon molecular.



Fonte: Alves (1998)

Figura 33: Proposta de fragmentação própria do autor do  $m/z = 93$ , partindo do íon molecular



Um elétron é retirado na insaturação formando um cátion radical, esse radical emparelha-se com o elétron do carbocátion formando a ligação dupla, e rompendo o grupo  $\text{C}_3\text{H}_7$  na forma de radical, estabelecendo o pico  $m/z = 93$ .

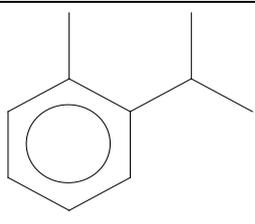
### Ação farmacológica do $\lambda$ -Terpineno

Existem poucos estudos na literatura a respeito de suas propriedades farmacológicas, no entanto, o gama-terpineno, junto à outras substâncias, que compõe majoritariamente alguns óleos essenciais, destacam-se em suas atividades antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória e antiproliferativa (MOSSA; NAWWAR, 2010).

No quadro 5 tem-se os dados da molécula do *o*-Cymeno obtido no óleo essencial, na figura 32 tem-se o espectro de massas, proposta de fragmentação para a molécula do *o*-Cymeno íon  $m/z = 119$  Figura 33.

### Espectro de Massas

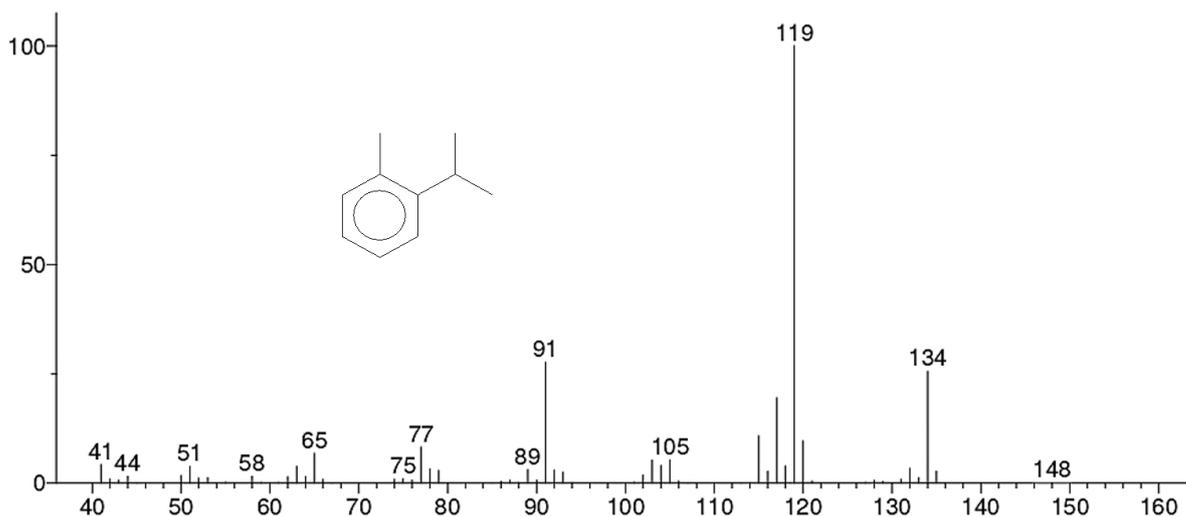
Quadro - 5 Dados do componente *o*-Cymeno

	Nomenclatura IUPAC: <i>o</i> -Cymol; <i>o</i> -Isopropyltoluene; 1-Isopropyl-2-methylbenzene; 2-Isopropyltoluene; Cymene, ortho;
	Nome usual: <i>o</i> -Cymeno
	Fórmula molecular: C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
	Peso molecular aproximado: 134 g/mol

Fonte: IUPAC.

Figura 34: Espectro de Massas do componente *o*-Cymeno (Tr = 10:10 min)

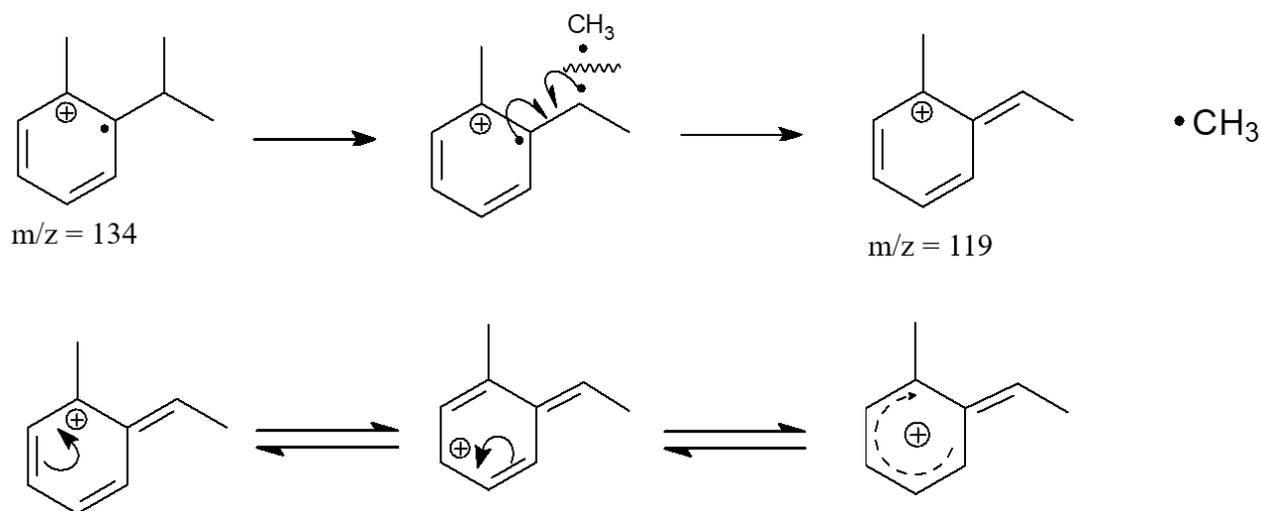
Unknown; InLib=-113



(Text File) Scan 538 (10.105 min): Mat-oleo-casca-24-05-23.D\data.ms

Fonte: Autor, 2023

Figura 35: Proposta de fragmentação própria do autor do  $m/z = 119$ , partindo do íon molecular



A proposta de fragmentação do pico  $m/z = 119$ , à partir do íon molecular, se dá pela ruptura da metila na forma de radical, que por sua vez, a estrutura química se estabiliza por ressonância.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie de *citrus* nativa estudada apresenta características distintas na sua composição do óleo essencial quando comparada a outras espécies de *citrus* da região do cerrado, pois apresenta poucos componentes.

O rendimento médio das amostras do OE foi de 0,17%, rendimento semelhante quando comparados a literatura.

A técnica de CG/MS proporcionou a identificação de oito componentes presente nas folhas de *Citrus sp*, e seis componentes presentes na casca do fruto. A partir dos espectros de massas obtidos propôs-se fragmentação para o Isopulegol (Pico molecular  $m/z = 154$ , pico  $m/z = 121$ , pico  $m/z = 95$ , pico base  $m/z = 41$ );  $\lambda$ -Terpineno (Pico molecular  $m/z = 136$ , pico base  $m/z = 93$ ); o-Cymeno (Pico molecular  $m/z = 134$ , pico base  $m/z = 119$ ).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIHPEC - **Associação Brasileira das Indústrias de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumaria**. Disponível em:  
[https://www.abihpec.org.br/conteudo/Panorama2009\\_Portugues.pdf](https://www.abihpec.org.br/conteudo/Panorama2009_Portugues.pdf). Acesso em 30 ago. 2009.
- ALMEIDA, R. B. A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. on *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* and *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 474–482, 2013.
- ALVES, L. V. **Análise dos constituintes químicos do óleo essencial de *Eugenia speciosa* Camb. (Myrtaceae)**. 1998. 115 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 1998. Disponível em: <<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/3912>>. Acesso em: 20 nov. 2023.
- ALVES, Q. L.; SILVA, D. F. D-Limonene: A Promising Molecule with Bradycardic and Antiarrhythmic Potential. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 5, p. 933–934, 1 nov. 2019.
- ALVES, T. M. DE A. et al. **Biological screening of Brazilian medicinal plants**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 95, n. 3, p. 367–373, jun. 2000.
- Aparicio-Zambrano, R., et al. Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). **Revista peruana de biología**, 26(1), 95-100. doi:10.15381/rpb.v26i1.15912
- ASSUNÇÃO, G. V. **Chemical characterization and evaluation of the larvicidal activity front *Aedes aegypti* of the essential oil of the *Citrus sinensis* L. Osbeck (sweet orange) species**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.
- BESSA, N. G. F. DE et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4 suppl 1, p. 692–707, 2013.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; RESENDE C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, 588-594, 2009.
- BOLZANI, V. DA S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 1, p. 04–05, mar. 2016.
- BORGES, W. DE S. et al. A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI. **Química Nova**, 3 jul. 2017.

BRITO, R. P. et al. Estudo do processo de extração do óleo essencial de Aniba canelilla via hidrodestilação por arraste a vapor. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia química. Anais. Florianópolis**. Disponível em: <<https://pdf.blucher.com.br/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/0467-25349-163355.pdf>>. Acesso em: 8 set. 2023.

CAMPELO, L. M. L. et al. Constituintes químicos e estudos toxicológicos do óleo essencial extraído das folhas de Citrus limon Burn (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4 suppl 1, p. 708–716, 2013.

CHAAR, J. S. **Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie Aniba duckei Kostermans**. 2000. 150 p. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, São Carlos, 2000.

ESTEVAM, E. B. B. **Composição química e atividades biológicas do óleo essencial das folhas de Citrus limonia e Citrus latifolia e dos frutos verdes e folhas de Protium ovatum**. Orientador: Dr<sup>a</sup> Cassia C. F. Alves. 2017. p. 34-35. Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de educação, ciência e tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Goiânia, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/11>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

EVERTON, G. O. et al. Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da Pimenta dioica L. e Citrus sinensis L. Osbeck. **Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm**, v. 49, n. 3, p. 641–655, jun/2020. Disponível em: <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182020000300641&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182020000300641&script=sci_arttext)>. 16 ago. 2023.

FELIPE, L. O; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Quím. nova esc**. Vol. 39, N° 2, p. 120-130, São Paulo – SP, 2017.

FERRAZ, J. B. S.; BARATA, L. E. S.; SAMPAIO, P. B.; GIMARÃES, G. P. Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**, v. 61, n. 3, p. 45-53, 2009.

FILHO, A. P. DE M. et al. Composição química do óleo essencial das flores de Myrcia guianensis (Aubl.) DC. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 4, 11 jan. 2020. Disponível em: <<https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/892/0>>. Acesso em: 16 ago. 2023.

FILIPPIS, F. de M. **Extração com CO2 supercrítico de óleos essenciais de Honsho e Ho-sho-experimentos e modelagem**. 114f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) –Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

GASPARIN, P. P. et al. Qualidade de folhas e rendimento de óleo essencial em hortelã pimenta (Mentha x Piperita L.) submetida ao processo de secagem em secador de leito fixo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2 suppl 1, p. 337–344, 2014.

GONSALVES, J. K. M. C. et al. Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, v. 5, n. 11, 2009.

JUCÁ, D. M. **Propriedades farmacológicas dos monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno no músculo liso gastrointestinal de ratos: efeito miorrelaxante e pró-cinético**. 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007. Disponível em: <<https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2314>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

LIMA, L. et al. **Plantas aromáticas e condimentares: uso aplicado na horticultura**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00053800.pdf>>. Acesso em: 9 set. 2023.

LOOMIS, W. D.; CROTEAU, R. In: STUMPF, P. K. (ed). **Biochemistry of Terpenoids. Lipids: Structure and Function: The Biochemistry of Plants**. Elsevier, 2014. Volume 4, Chap. 13, p. 364-410.

LUPE, F.A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia, Universidade Estadual de Campinas**. Orientador: Lauro E. S. Barata. 2007. p. 120. Dissertação (Mestrado) – Instituto de química, Universidade Estadual de Campinas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <https://docplayer.com.br/14339722-Estudo-da-composicao-quimica-de-oleos-essenciais-de-plantas-aromaticas-da-amazonia.html>. Acesso em: 22 jul. 2023.

MANGANOTTI, S. A.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E.R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, p. 1, 2010.

MARTINS, P. M. **Influência da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogum citratus* (D.C.) STAPP)**. 2000. 77 p. Dissertação (Mestrado- Área de Concentração em Plantas Mediciniais) –Departamento de Engenharia Agrícola – Plantas Mediciniais, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MAUL, A.; WASICKY, R. e BACCHI, E., Extração por fluido supercrítico, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2000. Disponível em: Acesso em: 17 Abr. 2017.

MAZZINGHY, R. L. **Caracterização do perfil dos voláteis constituintes do óleo essencial do *Citrus sp* da cidade de Araguaína, por arraste a vapor e CG/EM**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Tocantins – UFT, 2021.

McLafferty, W. F. **Turecek, Interpretation of Mass Spectra**. 4th ed. Sausalito, CA: University Science Books, 1993.

MCMURRY, J. 7º Ed. **Química Orgânica - Combo**. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 1344 p.

MENEZES FILHO, A. C. P. Avaliação química e atividades antifúngica e antioxidante dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros de *Citrus limonia* Osbeck. (limão-china). **Global Science and Technology**, Rio Verde – GO. v. 1, p. 2-4, dez./ 2020.

Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Antonio-Filho-19/publication/351657044\\_avaliacao\\_quimica\\_e\\_atividades\\_antifungica\\_e\\_antioxidant\\_e\\_dos\\_oleos\\_essenciais\\_dos\\_frutos\\_verdes\\_e\\_maduros\\_de\\_Citrus\\_limonia\\_Osbeck\\_limao](https://www.researchgate.net/profile/Antonio-Filho-19/publication/351657044_avaliacao_quimica_e_atividades_antifungica_e_antioxidant_e_dos_oleos_essenciais_dos_frutos_verdes_e_maduros_de_Citrus_limonia_Osbeck_limao)>. Acesso em: 09 dez. 2023.

MORAIS, Lilia A. S. et al. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Hortic Bras**, v. 27, n. 2, p. S4050-4063, 2009.

MOSSA, A. T. H.; NAWWAR, G. Free radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of *Origanum majorana* L. essential oil. **Human and Experimental Toxicology**, v.30, n.10, p.1501–1513, 2010.

NASCIMENTO IB. et al. Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim santo (*Andropogum* sp.). **Revista Caatinga** 19: 123-127.

NISBET, L. J.; MOORE, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? **Current Opinion in Biotechnology**. v. 8, n. 6, p. 708–712, dez. 1997.

OLIVEIRA, Marlucy Bezerra. **Extraction, characterization and evaluation of larvicidal activity essential oil of *Linnaeus Citrus limon* (Lemon) front mosquito *Aedes aegypti***. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em QUIMICA) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PINHO, G. P. et al. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, p. 987–995, 2009.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45–61, maio 2002.

PROSPERO, D. F. A. et al. Isopulegol apresenta atividade antinociceptiva e outras ações farmacológicas importantes: Uma Revisão Integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 5, p. 4271-4280, 2019.

REDA, S. Y.; LEAL, E. S.; BATISTA, E. A. C.; BARANA, A. C.; SCHNITZEL, E.; CARNEIRO, P. I. B. Caracterização dos óleos das sementes de limão rosa (*Citrus limonia* Osbeck) e limão siciliano (*Citrus limon*), um resíduo agroindustrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2005.

RODRIGUES, F. A. F. et al. Essential oils isolated from popular medicinal plants and spices as alternative antimicrobial and antibiofilm compounds against the pig pathogen *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 53, n. 5, 07, fev/2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220148>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

SILVA, M. I. G. **Investigação dos efeitos centrais e gastroprotetores do isopulegol em camundongos**. Orientador: Dr<sup>a</sup> Francisca Cléa Florenço de Sousa. 2009. 243 f. Tese

(Doutorado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X., **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 6a. Ed., LTC Livros Técnicos e Científicos S.A., Rio de Janeiro, 2000;

SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S. D.; COSTA JUNIOR, E. F. DA. **Modelagem da extração de óleos essenciais empregando coeficiente de difusão variável**. Engenharia Agrícola, v. 35, n. 2, p. 302–312, abr. 2015.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª edição. Editora da UFSC, 2003.

SIQUEIRA<sup>1</sup>, M. et al. **Extração e composição do óleo essencial de cascas de citrus de diferentes estádios de maturação**. 2020. 7º Simpósio de segurança alimentar, Rio Grande do Sul, v. 1, p. 1-4, out. 2020. Disponível em: <[http://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3\\_295.pdf](http://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3_295.pdf)>. Acesso em: 21 ago. 2023.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**. Volume 1. Tradução: LIN. W. O, Rio de Janeiro: LTC, 7ª ed., p. 645, 2000.

SOUZA, S. MEIRA, M.; FIGUEIREDO, L.; MARTINS, E. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia biosfera**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2010. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/4673>. Acesso em: 17 nov. 2023.

SOUSA, G. M. D. **Produção e avaliação do potencial biológico dos enantiômeros de  $\alpha$ -terpineol**: Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos. Orientador: Prof. Dr. Juliano Lemos Bicas. 2018. v. 3, 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Claudia Aparecida Romano, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=463153>. Acesso em: 24 set. 2023.

SOUSA, J. T. et al. Atividades terapêuticas do isopulegol relacionadas à Odontologia: estudo in silico. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e807974874–e807974874, 16 jun. 2020.

SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural production and extration curve evaluation. *Journal of Supercritical Fluids*, **New York**, v. 33, p 35-52, 2005.

TAVARES, N S. G. et al. 2.7 produção de repelente líquido, difusor e sabonete com óleo da casca de laranja: extração de óleo d-limoneno visando o aproveitamento e redução do resíduo. *In*: SILVA, R et al. **Resíduos sólidos**. 1. Ed. – Recife: EDUFRPE, 2018. (p. 176-183).

TRANCOSO, M. D. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, v. 5, n. 9, 16 jul. 2013.

VIANA, N. R et al. **D-limoneno e seus efeitos no diabetes mellitus**. 1. Ed. – Guarujá-SP: Editora científica digital, 30 set. 2022. p. 131-152.

ZAMYAD, M. et al. The anticonvulsant effects of *Ducrosia anethifolia* (Boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 77, n. 2, p. 106-114, fev. 2019. doi:10.1590/0004-282X20180147

ZENEON, O. et al. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. *In*: **Condimentos e vinagres**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 888-889.

**APÊNDICE**

APÊNDICE A – TRABALHO APRESENTADO NO 62º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA 2023.

**62º Congresso Brasileiro de Química**  
Natal / RN, 31/10/2023 a 03/11/2023



## **CARTA DE ACEITE**

Prezado(a) MATEUS SOUZA E SILVA,

A Comissão Científica do 62º Congresso Brasileiro de Química tem a satisfação de comunicar a V.Sa., a aceitação do trabalho intitulado "**Extração e caracterização de óleo essencial de *citrus sp* nativo do cerrado Tocantinense.**".

<b>Autor(es)</b>	<b>Instituição</b>
M. S. SILVA	UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
G. P. OLIVEIRA	UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
J. A. PAIVA	UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS

*Natal, 06 de Setembro de 2023.*

  
**Maria de Fátma Vitória de Moura**  
**Presidente do 62º CBQ**