

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**LETÍCIA COSTA PERES**

**EFEITO DA EXTRAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO DE FOLHAS DE *Corymbia citriodora* NO RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL**

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

**LETÍCIA COSTA PERES**

**EFEITO DA EXTRAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO DE FOLHAS DE *Corymbia citriodora* NO RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Benedito Rocha Vital

Coorientadora: Angélica de Cássia Oliveira Carneiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Peres, Leticia Costa, 1995-  
P415e Efeito da extração e do armazenamento de folhas de  
2022 *Corymbia citriodora* no rendimento e composição do óleo  
essencial / Leticia Costa Peres. – Viçosa, MG, 2022.  
1 dissertação eletrônica (78 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.  
Orientador: Benedito Rocha Vital.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Engenharia Florestal, 2022.  
Referências bibliográficas: f. 56-63.  
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.363>  
Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Corymbia citriodora*. 2. Essências e óleos essenciais.  
3. Destilação. 4. Extração (Química). I. Vital, Benedito Rocha,  
1946-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Engenharia Florestal. Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Florestal. III. Título.

GFDC adapt. CDD 22. ed. 634.98661

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

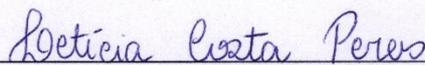
LETÍCIA COSTA PERES

**EFEITO DA EXTRAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO DE FOLHAS DE *Corymbia citriodora* NO RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2022

Assentimento:



---

Letícia Costa Peres  
Autora



---

Benedito Rocha Vital  
Orientador

## AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer as pessoas que fizeram este trabalho possível.

Ao meu orientador, professor Benedito Rocha Vital, e a minha coorientadora, professora Angélica de Cássia Oliveira Carneiro, indispensáveis e em todas as etapas deste trabalho.

Agradeço a paciência e a confiança.

Aos professores Haroldo Nogueira de Paiva e Eduardo Euclides de Lima e Borges (*in memoriam*). A pesquisadora Paula Surdi.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, especialmente ao Alexandre e ao Gilson.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Aos técnicos do Departamento de Engenharia Florestal Machado e Mauro.

Aos técnicos do Laboratório de Painéis e Energia da Madeira Bráulio, Chico, Eder, Fernanda e Lawrence.

Aos colegas do LAPEM, pela companhia e pelos cafés. Em especial a Bruna, Clarissa, Lucas e Miguel.

A minha família. Minha mãe, meu pai, a Laura e a Cacau.

Obrigada.

“Isn't it splendid to think of all the things there are to find out about? It just makes me feel glad to be alive—it's such an interesting world. It wouldn't be half so interesting if we knew all about everything, would it? There'd be no scope for imagination then, would there?”

Anne of Green Gables  
Lucy Maud Montgomery, 1908

## RESUMO

PERES, Letícia Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Efeito da extração e do armazenamento de folhas de *Corymbia citriodora* no rendimento e composição do óleo essencial.** Orientador: Benedito Rocha Vital. Coorientadora: Angélica de Cássia Oliveira Carneiro.

Visando a sustentabilidade e o avanço tecnológico, esforços coletivos são realizados de modo a encontrar formas de desenvolvimento mais adequadas à capacidade de suporte do ecossistema. O Brasil se destaca por diversas atividades relacionadas aos setores agrícola e florestal, dentre elas pela exportação de óleos essenciais, substâncias aromáticas voláteis e complexas obtidas a partir de materiais botânicos. A diversidade de funções químicas encontradas nos óleos essenciais oferece uma variedade de usos, sendo matéria-prima importante para diversas indústrias. O primeiro capítulo deste trabalho é uma revisão de literatura sobre óleo essencial de eucalipto, como é comumente denominado o óleo essencial de espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*, no que tange os pré-tratamentos do material vegetal, a extração e usos. O segundo capítulo refere-se à otimização da extração do óleo essencial de *Corymbia citriodora*, de forma a obter o maior rendimento empregando-se tempo de extração de 1, 2 e 3 horas e massa de folhas de 0,5; 1,0 e 1,5 Kg. O maior rendimento em óleo essencial foi obtido com 0,5 kg de folhas, durante duas ou três horas de extração. Foram encontrados cinco componentes com a prevalência do citronelal, em proporções maiores que 80%. Portanto, os parâmetros de extração alteram o rendimento e a composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora*. O terceiro capítulo trata do armazenamento das folhas de *Corymbia citriodora* para a extração de óleo essencial em temperatura ambiente e refrigeradas à 5°C, por um mês. Nas folhas não refrigeradas houve perda de cerca de 40% do óleo essencial entre a primeira e última semanas. As amostras não refrigeradas perderam significativamente mais massa que as refrigeradas. Três componentes foram identificados na maioria das amostras, com grande predominância do citronelal, com valores superiores à 90%. O armazenamento de folhas não refrigeradas não é recomendado. Não houve alterações na composição entre folhas refrigeradas e não refrigeradas, ou ao longo do tempo de armazenamento. O armazenamento de folhas refrigeradas, por períodos de até duas semanas, pode ser realizado sem perda significativa de rendimento.

Palavras-chave: Citronelal. Destilação a vapor. Eucalipto. Pré-tratamentos.

## ABSTRACT

PERES, Letícia Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Effect of extraction and storage of leaves of *Corymbia citriodora* on essential oil yield and composition.** Advisor: Benedito Rocha Vital. Co-advisor: Angelica de Cássia Oliveira Carneiro.

Aiming at sustainability and technological advancement, collective efforts are carried out in order to find forms of development that are more suited to the ecosystem's support capacity. Brazil stands out for several activities related to the agricultural and forestry sectors, among them the export of essential oils, volatile and complex aromatic substances obtained from botanical materials. The diversity of chemical functions found in essential oils offers a variety of uses, being an important raw material for several industries. The first chapter deals with a literature review on eucalypts essential oil, as the essential oil of *Eucalyptus* and *Corymbia* species is commonly called, regarding the pre-treatments of plant material, the extraction, and uses of the essential oil. The second chapter refers to the optimization of the extraction of *Corymbia citriodora* essential oil, in order to obtain the highest yield using extraction times of 1, 2 and 3 hours and leaf mass of 0.5; 1.0 and 1.5 kg. The highest yield of essential oil was obtained with 0.5 kg of leaves, during two or three hours of extraction. Five components were found with the prevalence of citronellal, in proportions greater than 80%. Therefore, the extraction parameters alter the yield and the composition of the essential oil of *Corymbia citriodora*. The third chapter deals with the storage of *Corymbia citriodora* leaves for essential oil extraction at room temperature and refrigerated at 5°C for one month. In the unrefrigerated leaves, there was a loss of about 40% of the essential oil between the first and last weeks. The unrefrigerated samples lost significantly more mass than the refrigerated ones. Three components were observed in most samples, with a great predominance of citronellal, with values above 90%. Storage of unrefrigerated leaves is not recommended. There were no changes in composition between refrigerated and unrefrigerated leaves, or over storage time. The storage of refrigerated leaves, for periods of up to two weeks, can be carried out without significant loss of yield.

Keywords: Citronellal. Eucalypts. Pre-treatments. Steam distillation.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	9
CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA. Óleo essencial de <i>Eucalyptus</i> e <i>Corymbia</i> : pré-tratamentos, extração e usos. ....	11
1 INTRODUÇÃO .....	12
2 ÓLEOS ESSENCIAIS .....	14
3 PRÉ-TRATAMENTOS .....	16
3.1 Secagem .....	16
3.2 Fragmentação .....	17
3.3 Armazenamento .....	17
4 EXTRAÇÃO E PROCESSAMENTO .....	19
4.1 Extração .....	19
4.2 Processamento .....	21
5 CLASSIFICAÇÕES, PROPRIEDADES E USOS .....	23
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
CAPÍTULO 2 - RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CORYMBIA CITRODORA</i> .....	27
1 INTRODUÇÃO .....	28
2 OBJETIVOS .....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
5 CONCLUSÃO .....	40
CAPÍTULO 3 - EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE FOLHAS DE <i>CORYMBIA CITRIDORA</i> PARA A EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL .....	41
1 INTRODUÇÃO .....	42
2 OBJETIVOS .....	44
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
5 CONCLUSÃO .....	54
CONCLUSÕES GERAIS .....	55
BIBLIOGRAFIA .....	56
APÊNDICES .....	64

Apêndice A: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas na extração de óleo essencial de folhas de <i>Corymbia citriodora</i> .....	64
Apêndice B: Tabela das propriedades dos componentes do óleo essencial .....	71
Apêndice C: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas no óleo essencial após o armazenamento de folhas de <i>Corymbia citriodora</i> .....	72

## INTRODUÇÃO GERAL

Plantas aromáticas são utilizadas desde a antiguidade como fonte de aromas e sabores; no entanto com o avanço das técnicas de síntese, hoje a maior parte dos componentes aromáticos utilizados são quimicamente sintetizados. Com o surgimento de diferentes tecnologias e as subseqüentes revoluções industriais, e com o desenvolvimento incompatível com a capacidade de suporte do planeta, o mundo hoje sofre as consequências do aquecimento global. Neste contexto, surge a preocupação com o meio ambiente e o maior interesse do público na origem dos produtos, principalmente nos países desenvolvidos e em populações com maior poder aquisitivo. Este cenário propiciou o aumento pela demanda de óleos essenciais, produtos naturais obtidos a partir de materiais botânicos (SCHWAB et al., 2008; BIZZO et al., 2009; SPEZIALI, 2012; DO et al., 2015).

No entanto, nem todo processo de extração de óleo essencial pode ser considerado sustentável. Dada a grande quantidade de material vegetal necessária para extrair óleos essenciais que por natureza tem uma pequena concentração na planta e, portanto, um rendimento muito baixo (usualmente menor que 5%), a extração de óleo essencial de algumas plantas pode causar rapidamente danos a espécie.

Este é o caso do início da extração de óleo essencial no Brasil. Os óleos essenciais na Amazônia Brasileira passaram a ter importância econômica a partir de 1927, com a extração do óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) nos estados do Pará e Amazonas com base no extrativismo, e em 1933 já havia preocupação com a exploração predatória da espécie (VITTI; BRITO, 2003; BIZZO et al., 2009; ALMEIDA, 2016).

Neste contexto, o uso múltiplo de áreas plantadas de *Eucalyptus* e *Corymbia* é uma possibilidade de extração sustentável de óleo essencial, de gêneros já estabelecidos comercialmente. No entanto, apesar de ter havido pesquisas sobre o perfil aromático de espécies de *Eucalyptus* ao longo dos anos, pouco se conhece sobre as espécies de *Corymbia* e principalmente sobre os híbridos atualmente sendo desenvolvidos.

Além disso, também há pouca informação sobre a interferência das diversas variáveis do processo de extração, como o armazenamento das folhas e como o processo deve ser conduzido em relação ao rendimento e composição do óleo essencial extraído.

O presente trabalho está dividido em três capítulos. O primeiro é uma revisão de literatura e aborda o óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia* desde os pré-tratamentos, extração e possíveis usos dos óleos essenciais a depender de sua composição.

No segundo e terceiro capítulo serão utilizadas folhas de *Corymbia citriodora*. O capítulo dois trata da extração do óleo essencial, e da variação de rendimento e composição do mesmo. O terceiro capítulo versa sobre armazenamento das folhas para a extração do óleo essencial, sendo estas refrigeradas e não refrigeradas por um mês.

## **CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA. Óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia*: pré-tratamentos, extração e usos.**

### **RESUMO**

Óleo essencial é o produto obtido de matéria-prima de origem vegetal e são insumos para diversas indústrias. Nas plantas, os óleos essenciais são metabolitos secundários, principalmente mono e sesquiterpenos. Uma ampla gama de constituintes químicos pode ser identificada nos óleos essenciais, e utilizados para diversos fins. Antes da extração do óleo essencial das folhas, podem ser aplicados pré-tratamentos, como secagem, fragmentação e armazenamento, os quais podem interferir na composição e rendimento dos óleos essenciais. Os óleos essenciais podem ser extraídos de plantas empregando-se diversas técnicas. O método por arraste à vapor mais aplicado na extração de óleos de eucalipto, como é comumente chamado os óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia*. O método consiste em vaporizar os óleos essenciais com uma corrente de vapor, onde a mistura de óleos essenciais e água condensa-se e separa-se em camadas, pela diferença de densidade. Os óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia* são classificados em três grupos de acordo com sua aplicação: fins industriais, perfumaria ou medicinal. O óleo essencial de *Corymbia citriodora* é classificado como óleo para perfumaria, devido ao seu alto teor de citronelal. Apesar de ser uma prática antiga, ainda é necessário melhorar os processos de extração de óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia*, otimizando dos parâmetros de extração, bem como os pré-processamentos como o armazenamento das folhas. O rendimento, composição e qualidade dos óleos essenciais podem ser influenciados pelos diversos fatores bióticos e abióticos, desde a produção da matéria-prima botânica, processamento, extração do óleo e processos posteriores. Portanto, para melhorar o rendimento e qualidade é necessário conhecimento adequado sobre os processos. Além disso, novos materiais genéticos de *Corymbia* estão sendo desenvolvidos para atendimento a indústria florestal, e a sua potencialidade, pensando em usos múltiplos ainda é pouco explorada. A extração de óleos essenciais pode ser uma oportunidade potencial para usos múltiplos de *Eucalyptus* e *Corymbia*.

Palavras-chave: armazenamento de folhas; arraste a vapor; citronelal.

## 1 INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico e a busca pela sustentabilidade têm pautado as sociedades na atualidade. Muito se fala sobre uma nova revolução industrial, emissões atmosféricas, aproveitamento de resíduos e a implementação de técnicas que melhore processos já existentes. Estes objetivos fazem parte, por exemplo, dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU e nos diversos tratados internacionais, como o Acordo de Paris e os resultantes da COP26. Estes são esforços coletivos para desenvolver de forma mais adequada a capacidade de suporte do ecossistema. Esses objetivos também estão presentes no Setor Florestal.

O Brasil se destaca por diversas atividades relacionadas com os setores agrícola e florestal, dentre elas pela exportação de óleos essenciais (FAOSTAT, 2019), principalmente de frutos cítricos (COMEX, 2021). Dentre as exportações também estão o óleo essencial de eucalipto, como é comumente chamado o óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia* (COMEX, 2021). No entanto, pouco se conhece a composição dos óleos essenciais dos novos genótipos de *Corymbia* que estão sendo plantados no Brasil, principalmente de híbridos.

Com a implantação destas áreas, surge também a oportunidade do uso múltiplo para extração de óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia*, uma vez que a produção deste produto requer uma grande quantidade de folhas devido ao seu baixo rendimento. A utilização das folhas destes plantios se torna importante no contexto de sustentabilidade do setor florestal, uma vez que espécies arbóreas podem ser indevidamente exploradas para a produção de óleo essencial (VITTI; BRITO, 2003; BIZZO et al., 2009; ALMEIDA, 2016).

Esta alternativa para produzir óleo essencial, com o aproveitamento de folhas de árvores manejadas para a produção de madeira, ainda precisa ser mais bem elucidada. Pesar de já ter sido sugerida, a literatura referente a esta aplicação, especialmente em larga escala, é escassa (COPPEN; HONE, 1992; FAO, 1995; REIS et al., 2013; GARCÍA et al., 2017).

Os óleos essenciais obtidos das folhas de *Eucalyptus* e *Corymbia* têm propriedades que possibilitam a sua utilização para diversos fins, como na indústria farmacêutica ou em formulações cosméticas (HERCULANO et al., 2014; RAUT; KARUPPAYIL, 2014; SALEHI et al., 2019).

Quanto ao mercado dos óleos essenciais no Brasil, os dados disponíveis não os separam por biomassa utilizada para sua extração. Logo, é difícil dimensionar e compreender o mercado com os dados existentes, que se resumem a exportação e importação e não incluem o consumo interno dos países e não os separam pela origem do material vegetal utilizado para sua extração,

a exemplo dos óleos obtidos a partir de *Eucalyptus* e *Corymbia* (IBGE, 2020; FAOSTAT, 2019; COMEX, 2021).

Apesar de dados escassos, estima-se uma crescente demanda por óleos essenciais. Atualmente, a maioria dos aromas utilizados é quimicamente sintetizada, no entanto, apesar dos componentes naturais poderem ser individualmente quimicamente sintetizados, não têm as mesmas características do aroma natural. Também há um aumento do interesse do público sobre os processos de obtenção das matérias-primas e dos produtos, que converge com o maior interesse por óleos essenciais (VITTI; BRITO, 2003; SCHWAB et al., 2008; BIZZO et al., 2009; SPEZIALI, 2012; DO et al., 2015).

Este capítulo teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre métodos de extração de óleos essenciais, pré-tratamentos e formas de processamento, classificação e usos, do óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia*.

## 2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleo essencial é o produto obtido a partir de uma matéria-prima natural de origem vegetal, por destilação a vapor, ou por processos mecânicos a partir do epicarpo de frutas cítricas, ou por destilação a seco, após separação da fase aquosa - se houver - por processos físicos (ISO, 2013).

Nas plantas, os óleos essenciais são metabólitos secundários, um grupo diverso de componentes com função de defesa da planta contra vários herbívoros e microrganismos patogênicos. Eles também podem ter outras funções importantes, como sustentação estrutural (lignina), ou pigmentos (antocianinas). A sobrevivência das plantas é muito afetada pelas funções de seus metabólitos secundários (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os metabólitos secundários vegetais podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ; ZEIGER, 2013). Os óleos essenciais são compostos principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos (FORNARI et al., 2012; DUARTE et al., 2018).

Dentre as características comuns das plantas que acumulam óleos essenciais e outras substâncias estão as células especializadas, nas quais os óleos são armazenados. Essas estruturas variam amplamente, de tricomas glandulares nas *Lamiaceae*, dutos de resina em *Pinus* e glândulas em *Eucalyptus* e *Corymbia*. São tipicamente associadas a células especializadas, onde as vias de biossíntese dos óleos essenciais e outros compostos aromáticos são reconhecidas (KING et al., 2006; REHMAN et al., 2016). Óleos essenciais de partes diferentes de uma mesma planta podem ter características distintas (VITTI; BRITO, 2003), que também podem ser influenciadas por condições edafoclimáticas e do manejo (LEICACH et al., 2010; PRINS et al., 2010; REHMAN et al., 2016).

Os óleos essenciais são matérias-primas importantes das indústrias de fragrâncias, aromas, alimentícia e farmacêutica. São também utilizados nas indústrias de cosméticos, produtos de limpeza, herbicidas e inseticidas (PRINS et al., 2010; FORNARI et al., 2012; YOUSEFI et al., 2019).

Uma ampla gama de constituintes químicos pode ser identificada nos óleos essenciais. Os de maiores concentrações são conhecidos como componentes principais, e os de baixas concentrações como componentes traço (VITTI; BRITO, 2003).

Os terpenóides presentes nos óleos essenciais compreendem uma ampla variedade de funções orgânicas químicas como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis, éteres e ésteres

(FORNARI et al., 2012; DUARTE et al., 2018). Nos eucaliptos, ocorrem principalmente em glândulas nas folhas. Tem a função de defesa contra insetos, resistência ao frio quando plântulas, efeito alelopático e à redução da perda de água (VITTI; BRITO, 2003).

### 3 PRÉ-TRATAMENTOS

Antes da extração do óleo essencial, podem ser aplicados pré-tratamentos ao material, sendo mais usual a secagem, que tem como objetivo diminuir a umidade da folha, visando aumentar o rendimento da extração e facilitar o transporte. Também são comuns a fragmentação e o armazenamento.

#### 3.1 Secagem

Da Silva et al. (2019) determinaram o rendimento e composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson extraído a partir de folhas frescas e folhas secas em estufa, com circulação de ar forçado, à temperatura de 37 °C por 48 horas. O rendimento do óleo essencial obtido das folhas secas (2,02% p/p) foi superior ao obtido das folhas frescas (0,89% p/p) e não houve alterações significativas na composição do óleo essencial devido a secagem das folhas.

No geral, até certo ponto de secagem da folha, é possível aumentar o rendimento em óleo essencial, conforme observado por Achmad et al. (2018), que avaliaram as folhas de *C. citriodora* secas a sombra, seguido de extração por araste de vapor. Os autores observaram um aumento no rendimento em óleo essencial até o teor de umidade da folha em torno de 14 e 20%, sendo o rendimento ótimo 3,3%, havendo decréscimo no rendimento em folhas mais secas.

Figiel et al. (2010), em um estudo de secagem orégano (*Origanum vulgare* L.) observaram que durante a secagem houve diminuição das concentrações de voláteis, sendo essa associada à quantidade de água evaporada. Estes concluíram que a água age como um solvente e transportador, o que aumenta a perda de voláteis do material que está sendo seco para o ambiente. No entanto, estudos específicos são necessários para estabelecer uma relação definitiva entre as perdas de água e compostos voláteis.

Blank et al. (2007), em estudo do efeito da secagem no teor de óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), com folhas secas à 40 °C em estufa por 5 dias, concluíram que a secagem aumentou significativamente o teor e rendimento de óleo volátil, e que a secagem pode reduzir a resistência da membrana celular, colaborando com a liberação de óleo volátil durante a hidrodestilação.

### 3.2 Fragmentação

García et al. (2017) avaliaram a extração de óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* com folhas inteiras e fragmentadas, concluíram que as folhas inteiras apresentaram um melhor resultado. Na extração de 80 minutos de duração à 30 psi, que foi considerada a melhor pelos autores, o rendimento médio das folhas fragmentadas foi de 0,25% (m/m), enquanto das folhas inteiras foi de 0,47% (m/m).

Já Abed e Naife (2018) estudaram dois tamanhos de fragmentação de folhas de *Eucalyptus camaudulensis* (0,5 e 1 cm) em extração por hidrodestilação. Neste trabalho observou-se que menor quantidade de óleo essencial é extraída das partículas maiores em comparação com as partículas de menor tamanho, devido a menor área superficial.

Andrade e Gomes (2000) estudaram o efeito da fragmentação de folhas de *Corymbia citriodora*, triturando-as em um liquidificador doméstico e extraíram o óleo essencial em uma panela de pressão adaptada, com o método de hidrodestilação. Concluíram que apesar de proporcionar aumentos significativos na produção de óleo essencial, a trituração causou a contaminação do óleo com fragmentos foliares. No entanto, esta contaminação pode ser devido ao equipamento adaptado, podendo ser evitada.

No geral, os estudos de fragmentação de folhas de *Eucalyptus* e *Corymbia* são inconclusivos, mas este pré-tratamento pode representar um aumento no rendimento da extração.

### 3.3 Armazenamento

Não foram encontrados estudos sobre o efeito do armazenamento de folhas de *Eucalyptus* e *Corymbia* sobre o rendimento e a composição do óleo essencial. No entanto, existem alguns estudos com outras biomassas que podem colaborar com as discussões.

Kazaz et al., (2009) avaliaram os efeitos da temperatura e tempo de armazenamento no conteúdo e composição do óleo essencial de rosa (*Rosa damascena* Mill.). Os autores avaliaram o efeito de duas temperaturas (0 °C e 3 °C) e quatro tempos (7, 14, 21 e 28 dias) de armazenamento no rendimento e qualidade. O maior teor de óleo essencial foi obtido de pétalas destiladas imediatamente após a colheita, enquanto o menor teor de óleo foi obtido em pétalas armazenadas por 28 dias, independente da temperatura. A taxa de citronelol, um dos principais componentes do óleo de rosa, foi de 25,34% para pétalas destiladas imediatamente, enquanto variou de 41,07 a 72,52% nas pétalas armazenadas a 0 °C e 3 °C, por 28 dias.

Anh et al. (2019) estudaram os efeitos de armazenamento, secagem e fragmentação no rendimento em óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum* Linn.). O rendimento de folhas frescas foi maior que os obtidos a partir de folhas armazenadas sob refrigeração (4 °C), por um período de 24 horas. O rendimento foi drasticamente reduzido para menos da metade, no sexto dia de armazenamento.

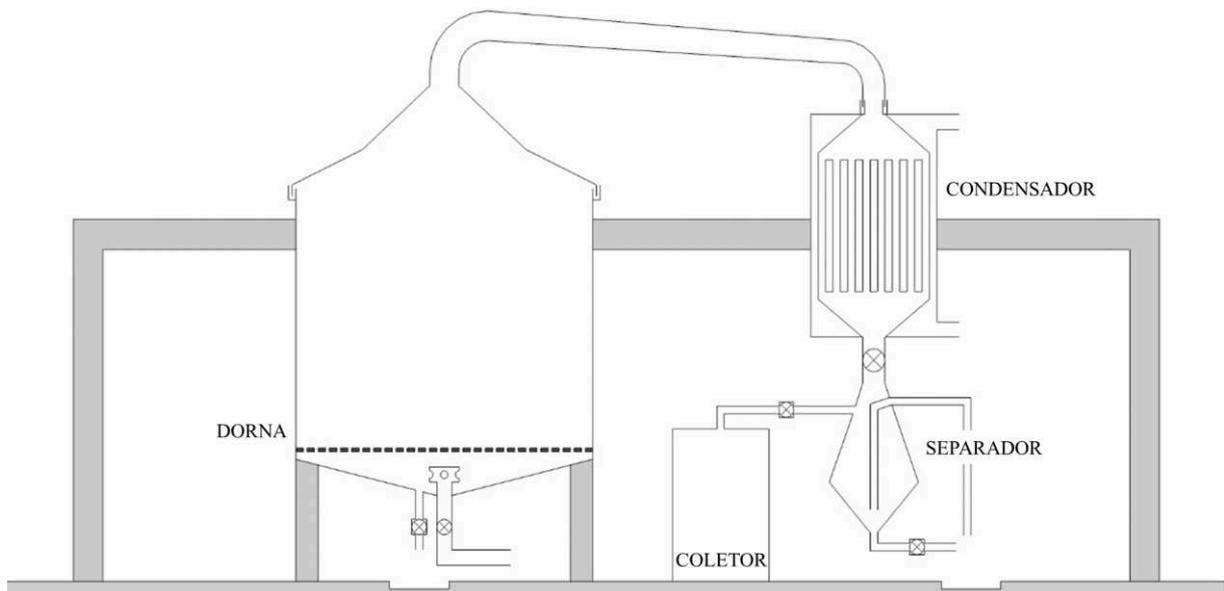
## 4 EXTRAÇÃO E PROCESSAMENTO

### 4.1 Extração

Os óleos essenciais são extraídos de plantas por meio de diversas técnicas como destilação a vapor, hidrodestilação, fluido supercrítico, prensagem a frio ou com uso de solventes (EL ASBAHANI et al., 2015; RASSEM et al., 2016; KHAYYAT et al., 2018).

O método empregado para folhas de *Eucalyptus* e *Corymbia* é o arraste de vapor, ou de destilação a vapor (Figura 1) e consiste em vaporizar os óleos essenciais submetendo-os a uma corrente de vapor, onde a mistura de óleos essenciais e água condensa-se e separa-se em camadas, pela diferença de densidade. Devido à sua natureza hidrofóbica e sua densidade diferente que a da água, após a extração, podem ser separados da fase aquosa por decantação. (EL ASBAHANI et al., 2015; RASSEM et al., 2016; KHAYYAT et al., 2018).

Figura 1. Esquema de um equipamento destilador de óleos essenciais, composto de caldeira, dorna, condensador, separador e coletor de óleo essencial



FONTE: adaptado de VITTI; BRITO, 2003

O sistema é dividido em: caldeira para o fornecimento do vapor; a dorna, onde são colocadas as folhas; condensador, o sistema para resfriar e separar os componentes; e a coleta e separação do óleo essencial. As folhas podem ser colocadas suspensas acima da água que será aquecida sendo ambas mantidas dentro da dorna; ou com uma fonte externa de vapor, com entrada do vapor na base da dorna (COPPEN; HONE, 1992).

Os parâmetros do processo de extração podem alterar o rendimento e a composição do óleo essencial, como a quantidade de material ou a proporção de material para a quantidade de vapor, a vazão do vapor, o tempo de extração, dentre outros. Nem todos esses parâmetros podem ser controlados em todos os equipamentos.

Galadima et al. (2012) estudaram a otimização do processo de extração do óleo essencial de *Eucalyptus tereticornis* Smith, considerando a relação massa de soluto/solvente (kg/kg), o tempo de extração (segundo) e a taxa de vapor (kg/s). A destilação a vapor foi realizada usando uma câmara com capacidade de 5 litros conectada a um frasco com capacidade de 2.000 litros com manta aquecedora. A temperatura do vapor foi mantida a 97 °C à pressão atmosférica. As condições de rendimento ótimo de óleo essencial foram obtidas com a extração de 105 min de tempo e taxa de vapor de 0,032 kg/h. Esses fatores promoveram um rendimento de 2,05%.

Boukhatem et al. (2014) extraíram óleo essencial de *Eucalyptus globulus* Labill, por destilação a vapor. A quantidade total de folhas frescas utilizada variou de 600 a 700 Kg, e obtiveram o rendimento de 0,2% (p/p).

García et al. (2017) estudaram a possibilidade do uso de áreas já estabelecidas de eucalipto para uso múltiplo no México. Avaliaram extração de óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. utilizando arraste de vapor, em equipamento com a capacidade de 10kgs. Foram utilizadas 1kg de folhas e avaliados pressão de vapor (psi), condição da folha (inteira ou cortada) e tempo de extração (min). Os autores concluíram que a poda de 20% das árvores de eucalipto é suficiente para suprir 1,45 vezes a demanda interna de óleo essencial de eucalipto do México.

Neste trabalho, o maior rendimento da extração foi de 0,52 % m/m. A melhor condição de operação para extração de óleo essencial foi com tempo de 80 min, pressão de vapor a 30 psi, e folhas inteiras. Os autores sugerem que após a extração as folhas podem ser utilizadas para a geração de energia, pois possuem poder calorífico médio de 1,95 PJ (GARCÍA et al., 2017)

Moreno et al. (2010) avaliaram tempo de extração e teor de umidade de folhas de *Eucalyptus globulus* no rendimento em óleo essencial, utilizando extrator de vidraria. Operando com tempos de extração entre 98 e 126 min e com folhas entre 25 e 30% de umidade, foram obtidos rendimentos de 2,11 mL de óleo essencial para cada 100g de folhas.

Afzal et al. (2017) desenvolveram um sistema de extração de óleo essencial usando energia solar, e obtiveram rendimentos de óleos essenciais de folhas frescas de *Eucalyptus camaldulensis*, folhas de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) e Pinus (*Pinus roxburghii* Sarg.),

com o rendimento de 0,59% (p/p), 0,4% (p/p), e 0,31% (p/p), respectivamente. O equipamento tem capacidade para 10 Kgs de plantas, e a extração teve a duração de 2 a 3 horas, a depender do material vegetal.

Achmad et al. (2018) extraíram óleo essencial de *C. citriodora*, *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake e *Eucalyptus viminalis* Labill, com arraste de vapor por 4 horas, utilizando folhas secas e fragmentadas (1,5x1,5 cm). O rendimento ótimo de óleo essencial foi 3,3% (p/p) para *C. citriodora*, 1,75% (p/p) e 1,93% (p/p) para *E. urophylla* em duas localidades e 3,25% (p/p) para *E. viminalis*.

Almas et al. (2019) estudaram a extração do óleo essencial de *Eucalyptus saligna* Smith, *Corymbia citriodora* e *Eucalyptus camaldulensis* por 3 horas, utilizando 1 Kg de folhas secas trituradas, com rendimentos variando de 0,3% (v/p) até 1,68% (v/p).

Vivan et al. (2011) projetaram um sistema móvel de extração de óleo essencial de eucalipto. Os autores concluíram o projeto é uma forma inovadora para extração de óleos essenciais, tendo como diferenciais a mobilidade; a flexibilidade, uma vez que o método pode ser utilizado para diversos materiais vegetais; e a economia, com a maximização no reaproveitamento da água, por meio do uso de circuito semifechado e minimização de espaços ociosos, com arranjo dos equipamentos sobre o porta-container. Os autores concluíram que o projeto tem resultados atrativos, com preços mínimos de comercialização bastante competitivos.

Além destes trabalhos, é comum encontrar aqueles que seguem as metodologias das diversas farmacopeias, com extração por hidrodestilação, que também está descrito na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019).

## **4.2 Processamento**

A ANVISA (2007) define óleos essenciais como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Podem ocorrer isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados.

A retificação pode ser utilizada no óleo de eucalipto para obtenção de 1,8-cineol, que é purificado em duas etapas, por destilação fracionada (retificação) e, em seguida, por um processo de congelamento. Este último geralmente é realizado apenas se o objetivo for a produção de eucaliptol (COPPEN; HONE, 1992).

A desterpenação, ou *foldin*, é a remoção dos terpenos hidrocarbonetos (monoterpenos) mais leves presentes no óleo essencial, concentrando os terpenos que contém outras funções químicas (aldeídos, cetonas, álcoois) e que conferem as nuances do aroma ao óleo (PAULETTI; SILVESTRE, 2018).

Estes processamentos podem ser realizados para atender a um uso específico e aumentar o valor agregado dos óleos essenciais.

## 5 CLASSIFICAÇÕES, PROPRIEDADES E USOS

Os óleos essenciais são classificados em três grupos de acordo com sua aplicação: para fins industriais, perfumaria ou medicinal (FAO, 1995). Os medicinais são caracterizados pelo teor de cineol destinados a fabricação de produtos farmacêuticos, encontrado principalmente espécie o *Eucalyptus globulus* (COPPEN; HONE, 1992; VITTI; BRITO, 2003). De acordo com as normas ISO, o teor mínimo de cineol é 70%. Óleos essenciais com alto teor de cineol (maior que 98%) são conhecidos como “eucaliptol”. Uma aplicação não medicinal para esses óleos é como solvente (COPPEN; HONE, 1992).

Outros óleos essenciais têm aplicações industriais pelo teor de felandreno, usado como solvente, e piperitona, a partir da qual é fabricado timol e mentol, um saborizante (COPPEN; HONE, 1992; VITTI; BRITO, 2003).

Os óleos essenciais com uso em perfumaria têm maiores teores de citronelal, citral ou acetato de geranila. Dentre eles, o óleo essencial com teores de citronelal, proveniente de *C. Citriodora*, é o produzido em maior volume e empregado na forma integral para fins de fragrâncias, geralmente em sabonetes, perfumes e desinfetantes; mas seu principal uso é como fonte de citronelal para a indústria química (COPPEN; HONE, 1992; VITTI; BRITO, 2003).

A composição do óleo depende, principalmente, de fatores genéticos e não dos ambientais, logo a espécie torna-se um dos fatores mais importantes na determinação da qualidade e do uso de um óleo essencial (COPPEN; HONE, 1992).

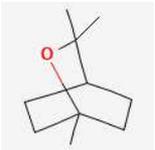
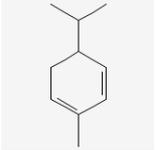
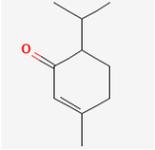
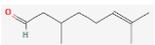
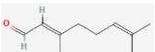
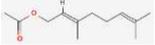
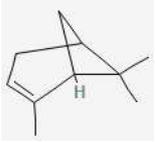
Segundo Vitti e Brito (2003) no Brasil a principal espécie produtora de óleo medicinal era *Eucalyptus globulus*, enquanto as espécies mais utilizadas na produção de óleo para perfumaria era *Corymbia citriodora*, rica em citronelal, e *Eucalyptus staigeriana* F.Muell. ex F.M.Bailey, rica em citral.

Além destes usos devido a composição dos óleos essenciais, outras espécies nos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia* tem diferentes componentes majoritários. Hayes et al. (2013) observaram diferenças na composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora* nas variedades citriodora, com  $56 \pm 4,8\%$  de citronelal, e a variedade variegata  $38 \pm 2,3\%$  de  $\alpha$ -pineno. Outras espécies cujo óleo essencial incluem maiores concentrações de  $\alpha$ -pineno são *Corymbia intermedia* (R.T.Baker) K.D.Hill & L.A.S.Johnson (FILOMENO et al., 2017), *Corymbia maculata* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson (PINO et al., 2002; FILOMENO et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018), *Corymbia ptychocarpa* (F. Muell.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson

(FILOMENO et al., 2017) e *Corymbia torelliana* (F.Muell.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson (REYES et al., 2019).

As propriedades químicas dos componentes majoritários de óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia* estão listados na Tabela 1. Estas são importantes e devem ser consideradas nos processos de extração. Por exemplo, a densidade menor que a da água e pouca solubilidade na mesma permite que o óleo essencial seja recuperado no processo de extração. Outra característica é o ponto de ebulição, que vai determinar quando durante o processo de extração um componente específico é extraído (BOUTEKEDJIRET et al. 2003; ZHELJAZKOV et al. 2014).

Tabela 1. Propriedades químicas dos componentes majoritários do óleo essencial de *Eucalyptus* e *Corymbia* (KIM et al., 2021)

Componente	Estrutura	Fórmula molecular	Massa molar	Densidade	Ponto de ebulição	Solubilidade
Cineol		$C_{10}H_{18}O$	154,25	0,9267 g/cm <sup>3</sup> em 20 °C	176,4 °C	Solúvel em etanol. Insolúvel em água
$\alpha$ -felandreno		$C_{10}H_{16}$	136,23	0,845-0,855 g/cm <sup>3</sup>	172,0 °C	Solúvel em etanol. Insolúvel em água
Piperitona		$C_{10}H_{16}O$	152,23	0,929-0,934 g/cm <sup>3</sup>	233,0 °C	Solúvel em álcool. Insolúvel em água
Citronelal		$C_{10}H_{18}O$	154,25	0,853 g/cm <sup>3</sup> em 20 °C	205 °C	Solúvel em etanol. Pouco solúvel em água.
Citral		$C_{10}H_{16}O$	152,23	0,885-0,891 g/cm <sup>3</sup> em 25 °C	228,0 °C	Solúvel em etanol. Muito pouco solúvel em água.
Acetato de geranila		$C_{12}H_{20}O_2$	196,29	0,9174 g/cm <sup>3</sup> em 15 °C	242 °C	Solúvel em álcool. Pouco solúvel em água.
$\alpha$ -pineno		$C_{10}H_{16}$	136,23	0,8625 g/cm <sup>3</sup> em 15 °C	156 °C	Solúvel em etanol. Insolúvel em água

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser uma prática antiga e aparentemente bem elucidada, é necessário pesquisar a extração de óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia*. Ainda há pouco conhecimento sobre o gênero *Corymbia*, com presença crescente devido ao desenvolvimento recente de seus híbridos, principalmente os *Corymbia torrelliana* x *Corymbia citriodora*, visando atendimento a indústria produtora de carvão vegetal.

Destaca-se que *Corymbia citriodora* já é conhecido pelo uso múltiplo para a extração de óleo essencial, e que se a composição e rendimento dos demais materiais genéticos do gênero seguir o padrão desta espécie, poderão ser utilizados para a produção de óleo essencial e em propriedades de diferentes escalas, o que é importante considerando que a maior produção de carvão vegetal, um importante parte do setor florestal nacional, se origina de pequenos produtores. Esta pode ser uma oportunidade para minimizar os riscos decorrentes das eventuais flutuações deste mercado com um segundo produto e promover o uso mais racional dos recursos florestais.

Alguns dos fatores relacionados a óleos essenciais que ainda precisam ser mais bem elucidados. É necessário caracterizar melhor o mercado nacional de óleos essenciais e os demais usos potenciais, sendo que não existe uma compilação de dados do setor. Pouco se conhece sobre o consumo de óleos essenciais no país. Também é necessário pesquisar sobre os parâmetros de extração dos óleos essenciais e pré-tratamentos das folhas, que serão abordados nos capítulos seguintes.

Os óleos essenciais são produtos com grande potencial para diversos usos. No entanto, são necessárias mais pesquisas sobre materiais genéticos, extração, métodos de análise, composição, classificação e usos dos óleos essenciais de *Eucalyptus* e *Corymbia*.

## CAPÍTULO 2 - RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CORYMBIA CITRODORA*

### RESUMO

Óleo essencial é uma substância composta, aromática, produzida pelo metabolismo secundário de plantas. A sua composição pode variar com a espécie de planta, o seu estágio de desenvolvimento, método de extração e diversas variáveis edafoclimáticas. Nos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, o óleo essencial se concentra nas folhas sendo extraído principalmente por destilação a vapor. Posteriormente, a mistura de óleos essenciais e água condensa-se e separa-se em camadas, pela diferença de densidade. O objetivo principal do trabalho foi determinar a massa de folhas de *Corymbia citriodora* a ser utilizada na extração e o tempo de residência no extrator visando maximizar o rendimento em óleo essencial. Além disso foi determinada a diferença na composição do óleo essencial nas diferentes condições de extração. Para tanto, foram utilizadas folhas de *Corymbia citriodora* coletadas de uma árvore plantada no município de Viçosa-MG. O teor de umidade das folhas foi determinado e as extrações dos óleos essenciais realizadas em extrator tipo Clevenger. Para otimizar os parâmetros de extração, o experimento foi realizado em sistema fatorial, com delineamento inteiramente casualizado, empregando-se tempo de extração de 1, 2 e 3 horas e massa de folhas de 0,5; 1,0 e 1,5 Kg. Determinou-se o rendimento e a composição química dos óleos por cromatografia (CG-EM). Observou-se que a interação entre tempo de extração e massa de folhas não foi significativa. O maior rendimento em óleo essencial foi obtido com 0,5 kg de folhas, durante duas ou três horas de extração. Foram encontrados cinco componentes, com a prevalência do citronelal, em proporção maior que 80%. A composição do óleo essencial foi afetada pela extração. Diferente do borneol e b-citronelol, a proporção de citronelal no óleo essencial tende a diminuir com os maiores tempos de extração. A melhor condição de extração para obter o maior rendimento em óleo essencial de *Corymbia citriodora* foi obtido com 0,5 Kg de folhas e 2 horas de extração. Os parâmetros de extração alteram o rendimento e a composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora*.

Palavras-chave: citronelal, citronelol, borneol

## 1 INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são substâncias compostas aromáticas produzidas pelo metabolismo secundário de plantas. São armazenados em diferentes estruturas da planta como flores, frutos, casca e folhas, e podem ser extraídos por diversos métodos. A diversidade de funções químicas encontradas nos óleos essenciais oferece uma variedade de propriedades e, posteriormente, uma variedade de usos. Os óleos essenciais são matérias-primas das indústrias de fragrâncias, aromas, alimentícia, farmacêutica, cosméticos e produtos de limpeza (PRINS et al., 2010; FORNARI et al., 2012; EL ASBAHANI et al., 2015; BARBOSA et al., 2016; DUARTE et al., 2018; YOUSEFI et al., 2019).

A composição do óleo essencial varia com a espécie e seu estágio de desenvolvimento, a parte que é utilizada, o método de extração e diversas variáveis edafoclimáticas. No entanto, mesmo com estas variações, existem propriedades esperadas de cada óleo a ser comercializado, sendo essas caracterizadas nas farmacopeias e diferentes normas (LEICACH et al., 2010; PRINS et al., 2010; REHMAN et al., 2016; ANVISA, 2019).

Nos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, o óleo essencial se concentra nas folhas sendo extraído principalmente pelo método da destilação a vapor ou arraste de vapor. Óleos diferentes atendem diferentes mercados, e a grande variedade de composição nos óleos essenciais extraídos destes gêneros permite que sejam utilizados em diversos fins nas indústrias de cosméticos, perfumaria, medicinal, saborizante, entre outros (FAO, 1995; BEN MARZOUG et al., 2010).

Esse método de extração é relativamente simples, e consiste em submeter as partes da planta a uma corrente de vapor, e posteriormente a mistura de óleos essenciais e água condensa-se e separa-se em camadas, pela diferença de densidade. Devido à sua natureza hidrofóbica após a extração podem ser separados da fase aquosa por decantação. (SANTOS et al., 2004; EL ASBAHANI et al., 2015; RASSEM et al., 2016; KHAYYAT et al., 2018).

Apesar de ser um método simples, diversos fatores relacionados aos parâmetros de processo podem influenciar no rendimento e qualidade do óleo resultante da extração, como a proporção de vapor para folhas e o tempo que essas ficam submetidas ao processo de extração.

Diante disso, é necessário pesquisas que visam elucidar melhor o efeito dessas variáveis sobre a extração de óleos essenciais de *Corymbia citriodora*, de modo a subsidiar os produtores nas melhores práticas de obtenção para potencializar cada vez mais, essa cadeia produtiva do setor florestal.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito dos parâmetros de extração de óleos essenciais de folhas de *Corymbia citriodora* visando maximizar rendimento.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar o efeito da massa de folhas *Corymbia citriodora* e do tempo de extração no rendimento em óleos essenciais.

Obter a produtividade em óleo essencial em função dos tratamentos.

Avaliar o efeito da massa de folhas *Corymbia citriodora* e do tempo de extração na composição dos óleos essenciais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas folhas de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson coletadas de uma árvore plantada no município de Viçosa-MG, coletadas no período de novembro a dezembro de 2020. As folhas foram coletadas às 7 da manhã, em quantidade suficiente para realização das extrações a serem realizadas no mesmo dia, visando evitar a influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre os tratamentos. O clima da cidade é do tipo Cwa (DOS SANTOS et al., 2021), temperado úmido com inverno seco e verão quente. Durante o período de coleta das amostras, a temperatura média foi de 22°C, a umidade relativa média foi de 81% e a pluviosidade somou 196,4mm de chuva, de acordo com os dados obtidos no sistema TEMPO (INMET, 2020).

As folhas foram retiradas, com o auxílio de um podão, em diferentes partes da árvore. Posteriormente, as folhas foram retiradas dos galhos, homogeneizadas e retiradas amostras para as extrações.

Foi determinado o teor de umidade das folhas, em base úmida, retirando-se uma amostra de 10 gramas de folhas picadas, que foram submersas em 125 mL de ciclohexano, em duplicata. Depois, essas foram colocadas em balão de destilação (500 mL) acoplado a um aparelho Clevenger modificado. Os frascos foram aquecidos a  $100 \pm 5$  °C. Os destilados contendo as fases aquosa e orgânica foram coletados em tubos de vidro graduados e os volumes das fases aquosas foram medidos (PIMENTEL, 2006; CASTRO et al., 2008).

As extrações dos óleos essenciais foram realizadas em extrator tipo Clevenger, em inox, modelo SL-76/I, da marca Solab, por destilação a vapor, capacidade volumétrica de 8,5 litros, sendo utilizados 5 litros de água por extração. O óleo essencial foi separado da água (hidrolato) por meio de um funil de separação devido as diferentes densidades. O volume foi mensurado em uma proveta e o óleo essencial armazenado em vidro âmbar.

O rendimento gravimétrico foi calculado de acordo com a Equação 1 (SANTOS et al., 2004).

$$TO = \frac{V_o}{Bm - \left(\frac{Bm \times U}{100}\right)} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

TO = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%)

Vo = volume de óleo extraído (ml)

Bm = biomassa vegetal (folhas) (gramas).

U = umidade da biomassa, base úmida (%).

A produtividade foi determinada pela Equação 2 (RADWAN et al., 2020).

$$P = \frac{V}{t} \quad (2)$$

Onde:

P - produtividade (ml/h)

V - volume de óleo essencial extraído (ml)

t - tempo de operação para extração de óleo (h)

Para determinar os parâmetros ótimos de extração, o experimento foi realizado em sistema fatorial, com delineamento inteiramente casualizado, variando o tempo de extração e a massa de folhas. A temperatura do equipamento foi fixada em 120 °C, para manter a água em ebulição durante todo o processo de extração.

Foram avaliados o tempo de extração e quantidade de folhas, com três níveis por fator (Tabela 3), em triplicata.

Tabela 3. Combinação dos fatores

<b>Tratamentos</b>	<b>Tempo de extração (horas)</b>	<b>Massa de folhas (Kg)</b>
1	1	0,5
2	1	1,0
3	1	1,5
4	2	0,5
5	2	1,0
6	2	1,5
7	3	0,5
8	3	1,0
9	3	1,5

A sequência da extração, com as diferentes combinações dos parâmetros, foi realizada em ordem aleatória. Empregou-se o teste de Lilliefors para verificar a normalidade dos erros, teste de Cochran para homocedasticidade dos erros e análise da independência dos erros.

Quando as pressuposições forem atingidas foi realizada análise de variância (ANOVA) e quando significativa foi realizado teste de Scott-Knott a 5% de significância. Foi utilizado o software R, e o pacote ExpDes.pt (FERREIRA, CAVALCANTI e NOGUEIRA, 2014).

Quando as pressuposições da ANOVA não foram atendidas, os resultados foram interpretados com auxílio de estatística descritiva.

As Análises Cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Catálise Homogênea e Heterogênea (LabCat) do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Para tanto, as amostras de óleo essencial foram previamente diluídas em hexano (50 µL de amostra para 1 ml de hexano).

A composição química das amostras foi obtida por análises qualitativas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A análise de CG foi realizada em um equipamento da marca Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, equipado com um processador de dados. Utilizou-se uma coluna capilar RTX – 5 (30 m de comprimento x 0,250 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura). O programa de temperatura da coluna foi: 40 °C a 240 °C à 3,5 °C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250 °C, o gás de arraste utilizado foi o hélio na pressão de 5,8 psi, em uma taxa de fluxo de entrada 3 mL/min e de fluxo total 46,2 mL/min. O volume injetado das amostras foi de 0,4 µL com um Split de 1:100. As análises no EM foram realizadas em um equipamento da marca Shimadzu, modelo GCMS – QP2010 Ultra, operando em 70eV, e a temperatura da fonte de íon foi mantida em 200 °C.

A identificação dos componentes foi realizada, a partir da fragmentação das suas massas, por comparação dos espectros de massa dos componentes aos espectros das bibliotecas de referência Adams e NIST (ADAMS, 2008; NIST, 1990), armazenados na base de dados do EM. Foram obtidos a proporção dos compostos e o tempo de retenção dos compostos na coluna.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre tempo de extração e massa de folhas não foi significativa, de forma que os fatores foram avaliados isoladamente (Tabela 1). O maior rendimento em óleo essencial foi obtido com 0,5 kg de folhas, e os tempos de duas e três horas foram estatisticamente iguais.

Tabela 1 - Rendimento em óleo essencial (%) por massa de folha seca e tempo de extração

Tempo de extração (horas)	Massa de folhas (Kg)			Média (%)
	0,5	1	1,5	
1	2,14 (0,5)	1,43 (0,1)	1,09 (0,2)	1,55 b
2	2,04 (0,4)	1,80 (0,2)	1,47 (0,3)	1,77 a
3	2,41 (0,1)	2,03 (0,3)	1,50 (0,3)	1,98 a
<b>Média (%)</b>	2,20 A	1,75 B	1,35 C	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem a 95% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. Valores entre parênteses indicam o desvio padrão.

Avaliando apenas o efeito da quantidade de folha utilizada para extração, nota-se que à medida que se aumentou a quantidade de folhas ocorreu uma redução significativa do rendimento médio em óleo essencial. Isso se deve, provavelmente, a maior facilidade de contato do vapor com as folhas, facilitando a liberação do óleo essencial das estruturas em que fica armazenado e permitindo que o óleo essencial extraído possa percolar melhor a carga com menor quantidade de folhas.

No entanto, ressalta-se que nem sempre essa tendência é observada, a exemplo do trabalho de Conde-Hernandez et al. (2017) que verificaram aumento no rendimento em óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas extrações com 50 g de material vegetal, quando comparadas as extrações com 25 g.

Quanto ao tempo de extração, observou-se um aumento de 0,22% no rendimento quando o período de extração aumentou de 1 para 2 horas, e uma estabilização após esse tempo. Este resultado é o esperado uma vez que maior proporção do óleo extraído no início e uma subsequente redução até que todo o óleo essencial seja extraído.

Apesar de não serem encontrados estudos desta relação especificamente com *Corymbia citriodora*, Périno-Issartier et al. (2013) e Anh et al. (2019) observaram esta relação com

Lavandim (*Lavandula intermedia* Emeric ex Loisel. var. Grosso) e alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) respectivamente.

Périno-Issartier et al. (2013) estudando óleos essenciais de Lavandim (*Lavandula intermedia*), com destilação por arraste à vapor, observaram maior rendimento em óleo essencial nos primeiros 60 minutos de extração, com redução após este período.

Já Anh et al. (2019) observaram aumento no rendimento do óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) ao longo do tempo de extração de uma para três horas, e após esse período verificaram estabilização na quantidade de óleo essencial. Concluíram que a quantidade de óleo essencial foi extraída totalmente em 3 horas, portanto, mesmo um tempo maior não aumentaria a produção.

Resultados como este são importantes para o processo de extração, pois é possível determinar o melhor momento para finalizar a extração e não desperdiçar recursos para obter pouco ou nenhum rendimento em óleo essencial.

Outro fator a ser considerado é a quantidade média de óleo essencial obtida por extração, conforme pode ser observada na Tabela 2. Não houve efeito da interação, sendo avaliados os fatores individualmente.

Tabela 2 - Volume de óleo essencial (ml) extraído por massa de folha fresca em função do tempo de extração

Tempo de extração (horas)	MASSA DE FOLHAS (Kg)			Média (ml)
	0,5	1	1,5	
1	5,0 (0,8)	6,7 (0,4)	7,5 (1,2)	6,4 b
2	4,9 (0,9)	8,3 (1,2)	10,7 (2,0)	8,0 a
3	5,7 (0,2)	9,8 (1,3)	11,0 (2,0)	8,9 a
<b>Média (ml)</b>	5,2 C	8,3 B	9,7 A	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem a 95% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. Valores entre parênteses indicam o desvio padrão.

Ao contrário do rendimento, o maior volume (ml) de óleo essencial extraído foi obtido com a maior quantidade de folhas. Logo, é necessário analisar não só o rendimento, mas também os custos de operação, como mão de obra e custos relacionados ao equipamento.

Houve um incremento de 4,5 ml entre a extração com menor e maior massa, no entanto a maior quantidade de folhas pode ter dificultado a extração do óleo essencial, diminuindo a produção de óleo como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Produção de óleo essencial por massa de folha na extração

<b>Massa de extração (Kg)</b>	<b>Média da quantidade de óleo extraído (ml)</b>	<b>Produção (ml óleo/Kg de folha)</b>
0,5	5,2 c	10,4
1,0	8,3 b	8,3
1,5	9,7 a	6,5

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem a 95% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Quanto ao tempo de extração (Tabela 2), os resultados em quantidade de óleo extraído (ml), são equivalentes aos obtidos para o rendimento, ou seja, o maior volume de óleo essencial foi extraído quando o tempo de residência foi de três ou duas horas. No entanto, é importante considerar a produtividade do equipamento, cujos resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Produtividade em óleo essencial (ml/h) em função do tempo de extração

<b>Tempo de extração (horas)</b>	<b>Produtividade em óleo (ml/h)</b>
1	6,4 a
2	4,0 b
3	2,9 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem a 95% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

A maior produtividade média foi obtida após uma hora de extração, evidenciando que a maior quantidade de óleo essencial foi extraída na primeira hora.

Este dado pode ser importante para calcular a viabilidade da extração de óleo essencial, uma vez que o tempo de operação do equipamento aumenta o custo, e o óleo essencial é comercializado por volume. De forma geral, a produtividade (ml/h) pode ser mensurada com mais facilidade, pois independe do teor de umidade do material vegetal, que depende do uso de

mais um equipamento e solventes. No entanto, ignorar a umidade do material compromete a comparação entre extrações.

Outra característica do óleo essencial, que pode ser modificada devido aos diferentes parâmetros de extração, é a sua composição. No óleo essencial de *Corymbia citriodora* extraído neste estudo foram encontrados cinco componentes, com a prevalência do citronelal (Tabela 5), presente em proporção maior que 80%, que é o mínimo requerido pela Farmacopéia Brasileira de 60% (ANVISA, 2019). Os cromatogramas encontram-se no Apêndice A.

Tabela 5 - Composição (%) do óleo essencial extraído em função das diferentes massas de folhas e tempo de extração

Componentes	Tempo de retenção (min)	Tempo extração 1 h			Tempo extração 2 h			Tempo extração 3 h		
		M0,5	M1	M1,5	M0,5	M1	M1,5	M0,5	M1	M1,5
Borneol	17,65	1,84	1,98	2,05	3,19	3,76	4,05	3,19	4,55	5,65
Citronelal	18,1	87,41	91,01	90,8	82,99	84,39	86,04	81,87	85,82	83,2
$\beta$ -Citronelol	21,17	6,06	5,35	5,26	8,11	6,43	5,65	10,43	7,01	7,71
Hidroxicitronelol	22,4	2,74	0	0	2	2,86	2,06	0	0	0
2-Ciclohepten-1-ona	26,15	1,95	1,66	1,89	3,71	2,56	2,2	4,51	2,62	3,44

M - massa, em quilos.

O borneol é obtido em maior proporção com o aumento da massa de folhas e tempo de extração, evidenciando que esse componente é extraído mais ao final do processo de extração do óleo essencial. Variou de 1,85% com 0,5 Kg de folhas e 1 hora de extração para 5,65% com 1,5 Kg de folhas e 3 horas de extração, tendo um incremento médio de 3,84% (Tabela 5). O borneol, também, foi encontrado no óleo essencial de *Corymbia citriodora* por Rajeswara Rao et al. (2003) e Vernin et al. (2004), que obtiveram valores médios de 0,1% e 0,8%, respectivamente, e Manika et al. (2012), com valores variando de 0,2 a 0,6% ao longo do ano, verificaram aumento de sua concentração no período de chuvas.

Troncoso et al. (2011) estudaram como diferentes componentes são biossintetizados quando árvores de *Corymbia citriodora* são afetados por fatores bióticos (estudando o inseto *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell, 1890)) e abióticas (estudando a inserção de microagulhas). Os resultados indicaram certo nível de especificidade na resposta das plantas aos diferentes tipos de danos. Os autores verificaram que as plantas produziram alguns componentes comuns

(por exemplo, borneol) quando confrontadas com os dois tipos de indução (mecânica e entomológica).

Sultana et al. (2008) estudaram o efeito dos fatores físicos na composição química do óleo essencial de *C. citriodora*. Observaram que o componente borneol foi formado quando o óleo foi aquecido à 110 °C ou exposto à luz solar, no entanto, essa indução promoveu a formação de apenas uma pequena quantidade residual.

O citronelal foi o componente encontrado em maior quantidade em todos os tratamentos (Tabela 5), destacando-se como o componente majoritário, como esperado, pois, segundo a Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2019) esse é o componente principal do óleo essencial de *Corymbia citriodora*. Diferente do borneol, sua proporção no óleo essencial tende a diminuir com os maiores tempos de extração. Isso evidencia que o mesmo é extraído no início do processo de extração dos óleos.

Também existem estudos sobre os fatores de variação de citronelal no óleo essencial, como Sangwan et al. (2001) que verificaram aumento no teor de óleo e na concentração desse componente em período com temperaturas mais quentes quando comparada a períodos mais frios, em regiões com acentuadas diferenças sazonais de temperatura. Filomeno et al. (2017) observaram maior proporção de citronelal no óleo extraído de folhas na estação seca (86,8%), quando comparada a estação chuvosa (31,4 %).

Quanto a proporção no óleo essencial de b-citronelol, nota-se que a sua maior concentração ocorreu nos tratamentos com maiores tempos de extração e está presente em maiores proporções com menores massas de folha (Tabela 5), o que pode indicar que a maior proporção de vapor de água pode auxiliar a sua extração. Cabe salientar que esse componente, geralmente, é encontrado no óleo essencial de *C. citriodora*, podendo chegar a proporções maiores do que encontrados neste trabalho, como os obtidos por Tolba et al. (2015) que verificaram valores médios de 10,63%, Faria et al., (2011) que obtiveram valor de 12,4%, Castro et al. (2008) concentrações variando de 8,3 a 20,84% e Filomeno et al. (2017) que verificaram valores de 3,3 a 43,6%, tendo observado maiores quantidades para *Corymbia citriodora* na estação chuvosa.

O hidroxicitronelol foi observado em quatro das nove amostras analisadas, e não apresentou nenhuma tendência específica quanto ao tempo de extração e quantidade de folhas utilizadas (Tabela 5). Este é um componente que, provavelmente, tem origem nas reações do citronelal ou b-citronelol. Devido à sua relação estrutural, dentro do mesmo grupo químico, os componentes do óleo essencial podem ser facilmente convertidos uns nos outros por reações de

oxidação, isomerização, ciclização ou desidrogenação, desencadeadas enzimaticamente ou quimicamente (TUREK; STINTZING, 2013).

O componente 2-Ciclohepten-1-ona, também, chamado de 2-Cicloheptenona e Tropileno, é o componente encontrado, no geral, em menor proporção nos óleos essenciais de *Corymbia citriodora* nas amostras analisadas (Tabela 5). Sua maior proporção parece estar relacionada com o maior tempo de extração e as menores massas de folhas, portanto, maior proporção de vapor de água.

Não foram encontrados trabalhos sobre esse componente extraído de folhas de *Corymbia*. No entanto, Kanaujia et al. (2016) encontraram o tropileno no bio-óleo de torta de sementes de Pinhão-manço (*Jatropha Curcas* L.); Bhandari et al. (2019) encontraram uma pequena proporção (0,03%) deste em óleo essencial de *Bothriochloa bladhii* (Retz.) S.T. Blake e Liu et al. (2020) encontraram o tropileno no perfil aromático de mangas (*Mangifera indica* L.);

Sobre esta variação de composição no óleo essencial devido a extração, não foram encontrados trabalhos especificamente com *Eucalyptus* e *Corymbia*, mas os trabalhos de Jeliaskova et al. (2018) com lúpulo (*Humulus lupulus* L.), Zheljzakov et al. (2014) com coentro (*Coriandrum sativum* L.), e Boutekdjiret et al. (2003) com alecrim (*Rosmarinus officinalis*) ajudam a compreender a variação no perfil aromático.

Jeliaskova et al. (2018) estudaram o tempo de extração do óleo essencial de lúpulo (*Humulus lupulus*) por destilação a vapor, e concluíram que este teve efeito significativo na concentração dos constituintes do óleo essencial. A maior parte do óleo (83,2%) foi extraída durante a primeira hora de destilação, cerca de 10% na segunda hora de destilação e apenas 7,5% durante a terceira e quarta hora de destilação. No entanto, os constituintes do óleo essencial foram extraídos em tempos diferentes, resultando em um perfil significativamente diferente das frações do óleo essencial.

Zheljzakov et al. (2014) estudaram o efeito do tempo de extração na composição do óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum*). Verificaram que o rendimento, em óleo essencial, aumenta com o tempo de extração até certo ponto e depois se estabiliza, com rendimentos máximos alcançados no tempo de destilação entre 40 e 160 min. As concentrações dos constituintes do óleo essencial, de baixo ponto de ebulição, foram maiores no tempo de destilação mais curto e diminuíram ao longo do tempo de destilação; mas a tendência se inverteu para os constituintes de alto ponto de ebulição. Os autores concluíram que diferentes tempos de destilação podem ser usados para obter óleo essencial com diferentes composições.

Boutekedjiret et al. (2003) estudaram a extração de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L) e a análise por cromatografia gasosa do óleo essencial recuperado com intervalos regulares de tempo permitiu acompanhar a evolução temporal do conteúdo relativo de alguns dos principais componentes do óleo, com os recuperados em ordem crescente de seus pontos de ebulição.

Como Zheljzakov et al. (2014) e Boutekedjiret et al. (2003), é possível fazer uma relação entre o ponto de ebulição do componente do óleo essencial e sua maior proporção com 1, 2 ou 3 horas de extração, de acordo com suas propriedades químicas, que estão listadas no Apêndice B.

O componente com menor ponto de ebulição, citronelal tem maiores proporções em 1 hora de extração, enquanto borneol e b-citronelol com 3 horas. Neste sentido, de forma a concentrar o citronelal, componente majoritário do óleo essencial de *Corymbia citriodora*, a extração deve ter a menor duração estudada, de 1 hora.

## 5 CONCLUSÃO

A massa de folhas e tempo de extração afetaram o rendimento e a composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora*;

O maior rendimento em óleo essencial (%) de *Corymbia citriodora* foi obtido com 0,5 Kg de folhas e 2 horas de extração.

A maior produtividade média (ml óleo/h extração) foi obtida com uma hora de extração, e a maior produção por massa (ml óleo/Kg folha) com 0,5 Kg de folhas.

O componente químico encontrado em maior quantidade nas folhas de *Corymbia citriodora* foi o citronelal, componente majoritário do óleo desta espécie, principalmente nas extrações mais curtas devido ao seu baixo ponto de ebulição.

O teor de citronelal de todos os tratamentos foi superior ao mínimo necessário para sua comercialização.

### **CAPÍTULO 3 - EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE FOLHAS DE *CORYMBIA CITRIDORA* PARA A EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL**

#### **RESUMO**

Os diversos parâmetros do processo de extração do óleo essencial interferem no seu rendimento, na sua composição e na sua qualidade, sendo necessários cuidados desde o cultivo da planta a ser utilizada até pré-tratamentos, armazenamento das folhas, a própria extração e o armazenamento do óleo essencial. As condições pós-colheita de folhas de *Corymbia citriodora* devem ser controladas como parâmetro de qualidade, evitando a deterioração dos materiais. O objetivo do trabalho foi determinar o efeito do armazenamento e da refrigeração de folhas de *Corymbia citriodora* no rendimento e composição do óleo essencial. Os óleos essenciais foram extraídos de folhas de *Corymbia citriodora* colhidas em árvores localizadas no município de Coimbra - MG. A armazenagem das folhas ocorreu em temperatura ambiente (média de 22 °C) e refrigeradas à temperatura média de  $5 \pm 2^\circ\text{C}$ . O óleo foi extraído de folhas logo após a coleta e com 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento. As extrações foram realizadas por destilação a vapor em extrator tipo Clevenger. Foram observados três componentes na maioria das amostras, com grande predominância do citronelal, acima de 90% do total. Nas folhas não refrigeradas houve perda de cerca de 40% do óleo essencial entre a primeira e última semana. As amostras não refrigeradas perderam significativamente mais massa que as refrigeradas. O armazenamento de folhas não refrigeradas não é recomendado para extração de óleo essencial. Não houve alterações na composição dos óleos essenciais obtidos das folhas refrigeradas e não refrigeradas ao longo do período de armazenamento. O armazenamento de folhas refrigeradas por curtos períodos, de no máximo duas semanas, pode ser realizado sem perda significativa de rendimento.

Palavras-chave: pós-colheita, refrigeração, CG-EM

## 1 INTRODUÇÃO

Os parâmetros do processo de extração do óleo essencial interferem no seu rendimento, na sua composição e na sua qualidade, sendo necessários cuidados desde o cultivo da planta a ser utilizada até pré-tratamentos, armazenamento da planta, a extração e o armazenamento do óleo essencial (LEICACH et al., 2010; VERMA, SHUKLA, 2015; RASSEM et al., 2016; REHMAN et al., 2016; KHAYYAT et al., 2018).

As condições pós-colheita das folhas devem ser controladas para que não ocorra perda de rendimento e qualidade, principalmente devido a deterioração dos materiais e alteração na composição dos óleos. As condições de embalagem e armazenamento devem garantir que a integridade do material vegetal seja preservada (SALGUEIRO et al., 2010).

No geral, utiliza-se folhas logo após a sua colheita para extração dos óleos essenciais, não permanecendo estas por muito tempo no campo para não comprometer a qualidade das folhas (VITTI; BRITO, 2003). No entanto, quando se busca o uso múltiplo de árvores de *Corymbia*, cada vez mais a distância entre o local de coleta e a destilaria aumenta, acarretando aumento nos custos com transporte. Além disso, também é necessário considerar a logística de transporte diário, bem como mão de obra para colheita das folhas.

Na busca por alternativas que possibilite o armazenamento das folhas, a literatura cita a refrigeração. Alguns trabalhos relatam armazenamento em temperaturas negativas, entre -20°C e -15°C (VITTI; BRITO, 1999; FARIA et al, 2011; PEREIRA et al., 2012; FILOMENO et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018; REYES et al., 2019). Outros armazenaram materiais refrigerados entre 4°C e 10°C (SALGADO et al., 2003; LUZ et al., 2018). No entanto, não é comum relatar o efeito do armazenamento da planta, de forma geral assumindo que não há alteração, significativa. Alguns trabalhos relatam que o armazenamento foi realizado pelo menor período possível.

Desta forma, não é possível estabelecer de forma clara o efeito do armazenamento nas folhas e no óleo essencial, uma vez que as alterações não são testadas e nos trabalhos que relatam realizar armazenamento. Além disso, existem poucos estudos no geral do efeito do armazenamento para extração de óleo essencial (KAZAZ et al., 2009; ANH et al. 2019), principalmente dos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*.

Assim, de forma a viabilizar maiores tempos de armazenamento de folhas de *Corymbia citriodora*, sem perder a sua integridade e, por consequência, seus efeitos no rendimento e

qualidade, o efeito da refrigeração e período de estocagem de folhas frescas para a extração do óleo essencial deve ser mais bem estudado.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Determinar o efeito do armazenamento de folhas de *Corymbia citriodora* para extração de óleos essenciais.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar o efeito da temperatura e período de armazenamento das folhas de *Corymbia citriodora* no rendimento em óleo essencial.

Verificar o efeito da temperatura de armazenamento e período de estocagem na composição dos óleos essenciais, obtidos de folhas de *Corymbia citriodora*, por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os óleos essenciais foram extraídos de folhas de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson coletadas de plantio localizado no município de Coimbra-MG, em 13 de janeiro de 2021. O clima da cidade é do tipo Cwa (Souza et al., 2008), com clima temperado úmido com inverno seco e verão quente.

Os galhos contendo as folhas foram coletados com auxílio de podão, transportados para o laboratório e dispostos sobre uma lona. Na sequência retirou-se as folhas, as quais foram homogeneizadas. Foram retiradas amostras de folhas de 500 gramas, as quais foram pesadas e ensacadas. Foram utilizados sacos de plástico transparente. As amostras ensacadas foram separadas de forma aleatória em dois grupos, para serem armazenadas em temperatura ambiente e refrigeradas. Retirou-se, também, amostras de 50 gramas de folhas para determinação do teor de umidade, base úmida, sendo armazenadas na mesma condição das amostras destinadas a extração de óleo essencial.

A armazenagem das folhas foi feita em sacos plásticos fechados e mantidos em temperatura ambiente, e em sacos plásticos fechados, porém mantidos refrigerados à temperatura média 5 °C, em uma câmara fria.

Durante o período de armazenamento das amostras, a temperatura média foi de 22,1 °C e a umidade relativa média foi de 78,3%, de acordo com os dados obtidos no sistema TEMPO (INMET, 2021).

Foram realizadas extrações após a coleta das folhas como testemunha e com 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento, em duplicata.

Foi determinado o teor de umidade das folhas, em base úmida, retirando-se uma amostra de 10 gramas de folhas picadas, que foram submersas em 125 mL de ciclohexano, em duplicata. Depois, essas foram colocadas em balão de destilação (500 mL) acoplado a um aparelho Clevenger modificado. Os frascos foram aquecidos a  $100 \pm 5$  °C. Os destilados contendo as fases aquosa e orgânica foram coletados em tubos de vidro graduados e os volumes das fases aquosas foram medidos (PIMENTEL, 2006; CASTRO et al., 2008).

As extrações dos óleos essenciais foram realizadas em extrator tipo Clevenger, em inox, modelo SL-76/I, da marca Solab, por destilação a vapor, capacidade volumétrica de 8,5 litros, sendo utilizados 5 litros de água por extração. As extrações foram realizadas com 0,5 Kg de folhas e duas horas de extração, de acordo com estudos preliminares. O óleo foi separado da

água (hidrolato) com um funil de separação devido as diferentes densidades, e medido em proveta. O óleo essencial foi armazenado em vidro âmbar.

O rendimento gravimétrico da extração foi calculado de acordo com a Equação 1 (SANTOS et al., 2004).

$$TO = \frac{Vo}{Bm - \left(\frac{Bm \times U}{100}\right)} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

TO = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%)

Vo = volume de óleo extraído (ml)

Bm = biomassa vegetal (folhas) (gramas).

U = umidade da biomassa, base seca (%).

O efeito das variáveis experimentais no rendimento em óleo essencial foi avaliado empregando-se um esquema fatorial, delineamento inteiramente casualizado, sendo um fator quantitativo (cinco tempos de armazenamento) e um fator qualitativo (duas condições de armazenamento), com duas repetições, totalizando 20 unidades amostrais. Foi realizado teste de Lilliefors para normalidade dos erros, teste de Cochran para homocedasticidade dos erros e análise da independência dos erros. Quando as pressuposições forem atingidas foi realizada análise de variância (ANOVA), e quando significativo foi realizado teste de Tukey a 5% de significância. Foi utilizado o software R, e o pacote ExpDes.pt (FERREIRA, CAVALCANTI e NOGUEIRA, 2014).

Quando as pressuposições da ANOVA não foram atendidas, os resultados foram interpretados com auxílio de estatística descritiva.

As Análises Cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Catálise Homogênea e Heterogênea (LabCat) do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Para tanto, as amostras de óleo essencial foram previamente diluídas em hexano (50 µL de amostra para 1 ml de hexano).

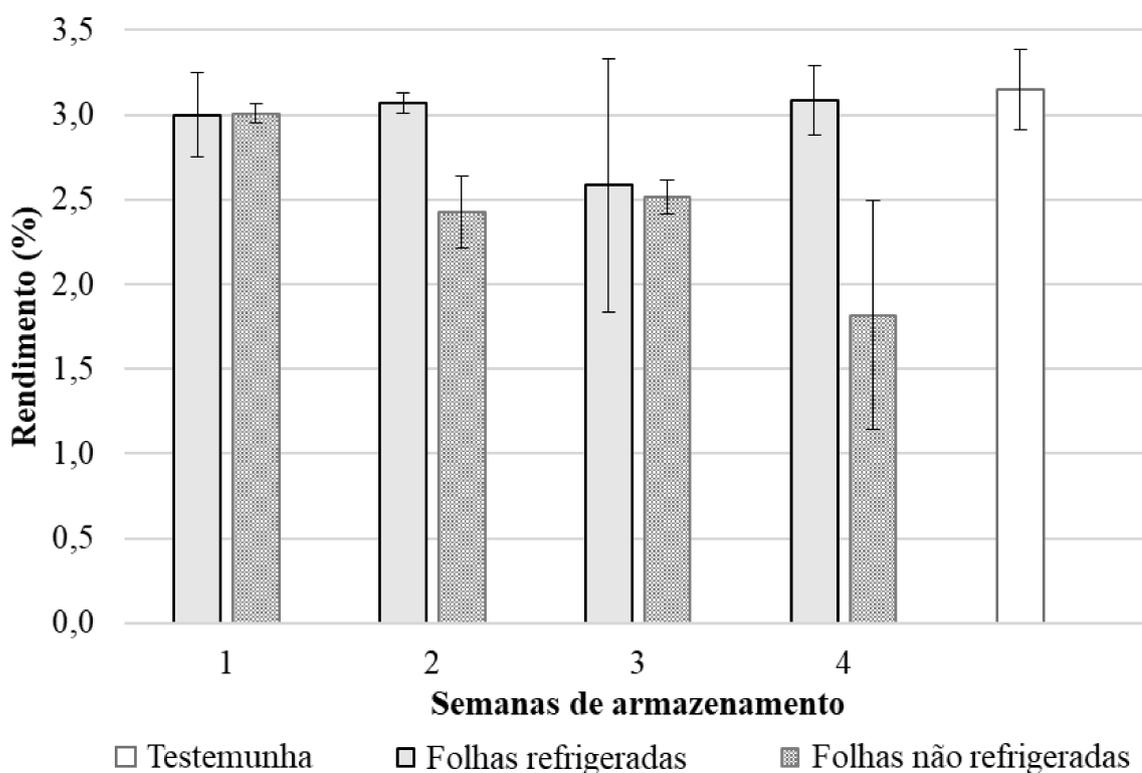
A composição química das amostras foi obtida por análises qualitativas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A análise de CG foi realizada em um equipamento da marca Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, equipado com um processador de dados. Utilizou-se uma coluna capilar RTX – 5 (30 m de comprimento × 0,250

mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura). O programa de temperatura da coluna foi: 40 °C a 240 °C à 3,5 °C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250 °C, o gás de arraste utilizado foi o hélio na pressão de 5,8 psi, em uma taxa de fluxo de entrada 3 mL/min e de fluxo total 46,2 mL/min. O volume injetado das amostras foi de 0,4 µL com um Split de 1:100. As análises no EM foram realizadas em um equipamento da marca Shimadzu, modelo GCMS – QP2010 Ultra, operando em 70eV, e a temperatura da fonte de íon foi mantida em 200 °C. A identificação dos componentes foi realizada, a partir da fragmentação das suas massas, por comparação dos espectros de massa dos componentes aos espectros das bibliotecas de referência Adams e NIST (ADAMS, 2008; NIST, 1990), armazenados na base de dados do EM. Foram obtidos a proporção dos compostos e o tempo de retenção dos compostos na coluna.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito significativo da interação entre condição e tempo de armazenamento, no rendimento logo os fatores foram avaliados isoladamente. Também não foram observadas diferenças significativas no rendimento em função do tempo de armazenamento, provavelmente devido ao alto desvio padrão (Figura 1).

Figura 1 - Rendimento médio em óleo essencial e desvio padrão ao longo do tempo de armazenamento de folhas refrigeradas e não refrigeradas.



O rendimento médio das folhas refrigeradas foi de 3,1% nas semanas 1, 3 e 4 de armazenamento, com menor rendimento obtido após duas semanas (2,6%) (Figura 1).

Quanto as folhas não refrigeradas, nota-se que o rendimento diminuiu de 3,1% na testemunha, logo após a coleta das folhas, para 1,8% após a quarta semana de armazenamento (Figura 1). A diferença não foi significativa, contudo, este tempo de armazenamento representou uma redução de cerca de 40%.

Apesar de não ser possível observar diferença significativa nos valores médios de rendimento, a média da massa da amostra armazenada nas duas condições (Tabela 1) exemplifica como ocorreram mudanças nas amostras ao longo do tempo.

Tabela 1 - Variação da massa de folhas em função do tipo e período de armazenamento

<b>Tempo de armazenamento (semanas)</b>	<b>Massa de folhas refrigeradas (g)</b>	<b>Massa de folhas não refrigeradas (g)</b>
testemunha		500,0
1	495,0 A	485,0 B
2	492,5 A	470,0 B
3	492,5 A	460,0 B
4	490,0 A	447,5 B

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si a 95% de probabilidade, pelo teste F.

Observa-se que a perda de massa das amostras de folhas não refrigeradas foi significativamente maior em relação as armazenadas sob refrigeração. Já na primeira semana a diferença era de, em média, 10 g, chegando a 42,5 g na quarta semana, ou seja, 2,02% e 8,67% respectivamente. Esta diferença provavelmente é devido a deterioração de parte das folhas, devido ao desenvolvimento de fungos, sendo que o ambiente não refrigerado é mais propício para seu desenvolvimento (Figuras 2 e 3).

Figura 2 - Aspectos das folhas de *Corymbia citriodora*, estocadas sob refrigeração, em função do período de armazenamento.

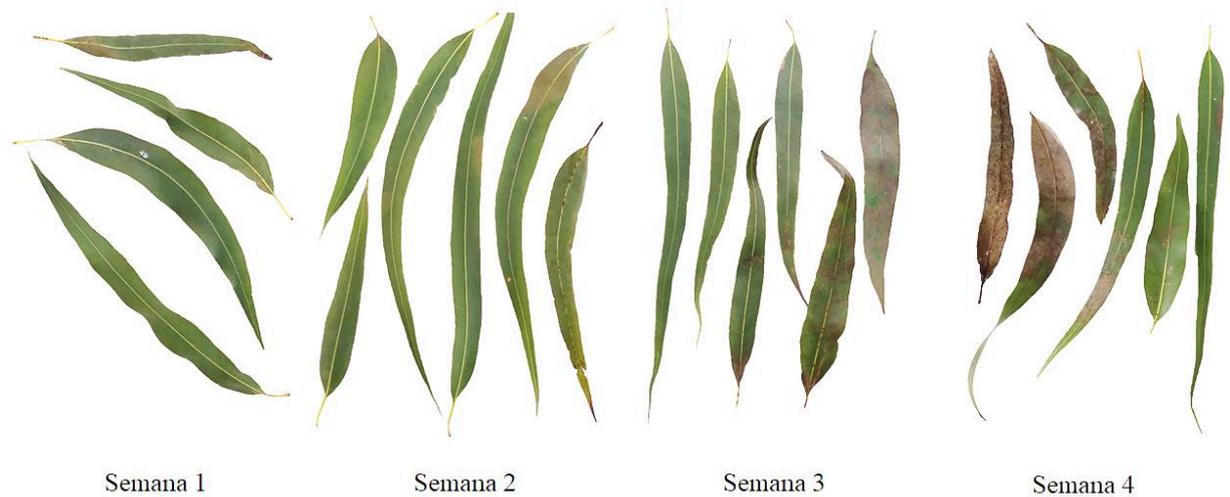


Figura 3 - Aspectos das folhas de *Corymbia citriodora*, estocadas em temperatura ambiente, em função do período de armazenamento.



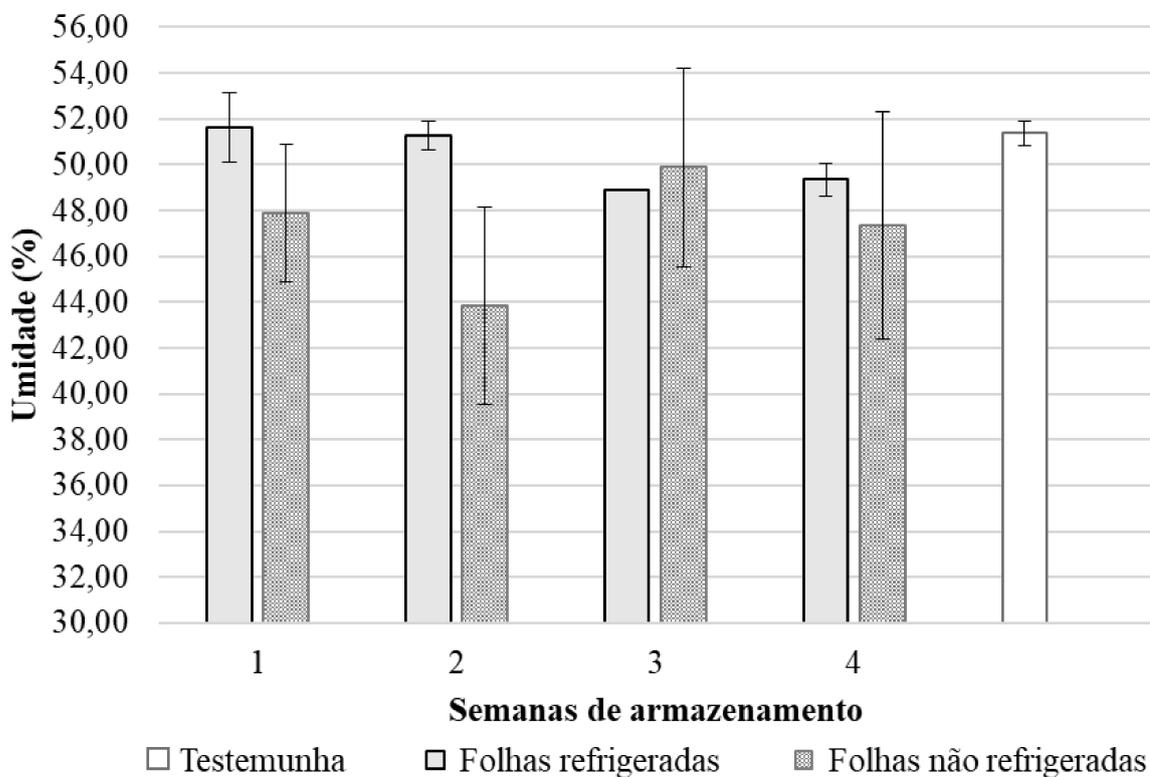
Verificou-se durante o período de armazenamento acúmulo de água nas superfícies das folhas não refrigeradas, que ficaram com aparência úmida, enquanto as folhas refrigeradas mantiveram a aparência inicial mesmo após duas semanas de armazenamento. Nas folhas refrigeradas, foram observadas folhas deterioradas somente após a terceira e quarta semana.

Esta aparência pode ser devido a água presente na própria folha no início do armazenamento, que devido a temperatura foi retirada da folha e posteriormente se acumulou

na sua superfície. Também pode ser devido ao metabolismo secundário dos fungos, que produz compostos diversos e complexos, mas que podem ser detectados nos teores de umidade (FARIA, 2020)

Por um destes motivos ou pela combinação dos dois, a umidade das amostras não se alterou em ambas as condições ao longo do armazenamento, como pode ser observado na Figura 4.

Figura 4 - Umidade média das folhas e desvio padrão ao longo do tempo de armazenamento de folhas refrigeradas e não refrigeradas.



Nas composições dos óleos essenciais em função da condição armazenamento das folhas (Tabela 2) foram observados três componentes, na maioria das amostras, com grande predominância do citronelal acima de 90%. Os cromatogramas encontram-se no Apêndice C.

Tabela 2 - Composição do óleo essencial (%) das folhas armazenadas sob refrigeração e não refrigeradas

		Borneol	Citronelal	$\beta$ -Citronelol	Hydroxycitronelol
Testemunha		1,91	93,48	4,61	0
Folhas refrigeradas	1	2,14	93,35	4,51	0
	2	1,97	93,89	4,14	0
	3	1,71	93,52	4,77	0
	4	1,64	94,46	3,9	0
Folhas não refrigeradas	1	1,73	93,35	4,92	0
	2	1,71	93,42	4,87	0
	3	1,46	93,83	4,71	0
	4	2,14	90,82	3,86	3,18

De modo geral, não houve diferença na composição dos óleos em função do tipo de armazenamento das folhas.

O hidroxycitronelol foi observado no óleo essencial obtido de folhas não refrigeradas, após quatro semanas de armazenamento com a concentração de 3,18% no óleo essencial. Este tratamento obteve a menor concentração de citronelal (90,82%), que é possivelmente a origem do hidroxycitronelol. Devido à sua relação estrutural dentro do mesmo grupo químico, os componentes do óleo essencial podem ser facilmente convertidos uns nos outros por reações de oxidação, isomerização, ciclização ou desidrogenação, desencadeadas enzimaticamente ou quimicamente (TUREK; STINTZING, 2013).

Não foram encontrados estudos relatando o efeito do armazenamento de folha de *Corymbia citriodora* na sua composição, no entanto os estudos de armazenamento de folhas de alfavaca (ANH et al. 2019) e rosa (KAZAZ et al., 2009) mostraram alterações no rendimento e composição do óleo essencial.

Anh et al. (2019) avaliaram o efeito do armazenamento, secagem e fragmentação de folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) no rendimento em óleo essencial. No armazenamento refrigerado (4 °C), o rendimento da folha fresca foi maior que o do primeiro dia de refrigeração. Os autores verificaram que o rendimento foi reduzido à metade após o sexto dia de armazenamento das folhas.

Kazaz et al. (2009) avaliaram os efeitos da temperatura (0 °C e 3 °C) e período de armazenamento (7, 14, 21 e 28 dias) no rendimento e composição do óleo essencial de rosa (*Rosa damascena* Mill.). O maior rendimento em óleo essencial foi obtido de pétalas destiladas imediatamente após a colheita, enquanto o menor foi obtido a partir de pétalas armazenadas,

em ambas as temperaturas, por 28 dias. A taxa de citronelol, um dos principais componentes do óleo de rosa, foi de 25,34% nas pétalas destiladas imediatamente, enquanto se observou uma variação de 41,07 a 72,52% quando se extraiu os óleos de pétalas armazenadas a 0 °C e 3 °C, por 28 dias, indicando que o armazenamento prejudicou a composição do óleo.

Uma diferença que pode ser observada quanto à *Corymbia citriodora* é que no armazenamento refrigerado não houve perda de rendimento ou alteração na composição durante as quatro semanas. O grande empecilho ao armazenamento é a presença de fungos, principalmente a partir da segunda semana. Também é necessário avaliar se há alterações de rendimento e composição com o armazenamento de uma maior quantidade de folhas, em escala industrial. Desta forma, sendo observadas estas condições o armazenamento das folhas refrigeradas por até duas semanas pode ser realizado.

## 5 CONCLUSÃO

Nas folhas não refrigeradas foi observada a maior perda de massa durante o período de armazenamento, além da redução de até 40% no rendimento em óleo essencial após quatro semanas. Além disso, foi visualizada uma maior presença de fungos. O armazenamento de folhas não refrigeradas não é recomendado.

Não houve efeito da condição e tempo de armazenamento das folhas de *Corymbia citriodora* na composição dos óleos essenciais.

O armazenamento de folhas refrigeradas à 5 °C, por até duas semanas, é recomendada, pois não houve perdas significativas de rendimento em óleos essenciais ou alteração na composição do óleo essencial, e pouca alteração visual nas folhas.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os óleos essenciais são produtos com grande potencial para diversos usos. No entanto, ainda há o que ser elucidado sobre seu processo de extração.

A quantidade de folhas e tempo de extração afetaram o rendimento e a composição do óleo essencial de *Corymbia citriodora*. O maior rendimento em óleo essencial de em média 2,04% foi obtido com 0,5 Kg de folhas e 2 horas de extração. Utilizando estes parâmetros, o teor de citronelal foi de 82,99%.

O armazenamento de folhas de *Corymbia citriodora* não refrigeradas e mantidas em sacos plásticos fechados em temperatura ambiente não é recomendado, devido a perda de até 40% do rendimento e desenvolvimento de fungos. O armazenamento de folhas refrigeradas à 5°C, por até duas semanas, é recomendada, pois não houve perdas significativas de rendimento em óleos essenciais ou alteração na composição do óleo essencial, e pouca alteração visual nas folhas.

## BIBLIOGRAFIA

- ABED, K. M.; NAIFE, T. M. Extraction of essential oil from iraqi *Eucalyptus camadulensis* leaves by water distillation methods. **IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering**, v. 454, 2018.
- ACHMAD, H. N.; RANA, H. E.; FADILLA, I.; FAJAR, A.; MANURUNG, R.; ABDUH, M. Y. Determination of yield and chemical composition of eucalyptus oil from different species and locations in Indonesia. **Biological and Natural Resources Engineering Journal**, v. 1, n. 1, 2018.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**, 4th Edition. Allured Publ., Carol Stream, IL, 2007.
- AFZAL, A.; MUNIR, A.; GHAFOOR, A.; ALVARADO, J. L. Development of hybrid solar distillation system for essential oil extraction. **Renewable Energy**, v. 113, p. 22-29, 2017.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopéia Brasileira**, 6 ed., Brasília - DF, 2019, 874 páginas.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopéia Brasileira** 6 ed., Volume II - Monografias. **Plantas Mediciniais**. Brasília - DF, 2019, 739 páginas.
- Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 2, DE 15 DE JANEIRO DE 2007**. Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-2-de-15-de-janeiro-de-2007.pdf/view>.
- ALMAS, I.; INNOCENT, E.; MACHUMI, F.; KISINZA, W. Effect of Geographical location on yield and chemical composition of essential oils from three Eucalyptus species growing in Tanzania. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v. 14, n. 1, 2019.
- ALMEIDA, N. A. Óleos essenciais e desenvolvimento sustentável na Amazônia: uma aplicação da matriz de importância e desempenho. **Reflexões Econômicas**, Ilhéus (BA). v. 2, n. 2, p. 136-158, abr.-set, 2016.
- ANDRADE, A. M.; GOMES, S. S. Influência de alguns fatores não genéticos sobre o teor de óleo essencial em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. **Floresta e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 181 - 189, 2000.
- ANH, T. T.; DUYEN, L. T.; HANG, L. M.; LAM, T. D.; BACH, L. G.; NGUYEN, D. C.; TOAN, T. Q. Effect of drying temperature and storage time on *Ocimum gratissimum* Linn. leaf essential oil from Central Highlands, Vietnam. **Materials Today: Proceedings**, v. 18, p. 4648–4658, 2019.
- BARBOSA, L. C. A.; FILOMENO, C. A.; TEIXEIRA, R. R. Chemical Variability and Biological Activities of Eucalyptus spp. Essential Oils. **Molecules**, v. 21, n. 1671, 2016.

BEN MARZOUG, H. N.; BOUAJILA, J.; ENNAJAR, M.; LEBRIHI, A.; MATHIEU, F.; COUDERC, F.; ABDERRABA, M.; ROMDHANE, M. Eucalyptus (gracilis, oleosa, salubris, and salmonophloia) Essential Oils: Their Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities. **J Med Food**, v. 13, n. 4, p. 1005–1012, 2010.

BHANDARI, K. B.; WEST, C. P.; KLEIN, D.; SUBBIAH, S.; SUROWIEC, K. Essential oil composition of WW-B.Dahl'old world bluestem (*Bothriochloa bladhii*) grown in the Texas High Plains. **Industrial Crops and Products**, v. 133, p. 1-9, 2019.

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

BLANK, A. F.; COSTA, A. G.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; EHLERT, P. A. D.; DE SOUSA, I. F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.

BOUKHATEM, M. N.; AMINE, F. M.; KAMELI, A.; SAIDI, F.; WALID, K.; MOHAMED, S. B. Quality assessment of the essential oil from Eucalyptus globulus Labill of Blida (Algeria) origin. **International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy**, v.17, n.3, p. 303-315, 2014.

BOUTEKEDJIRET, C.; BENTAHAR, F.; BELABBES, R.; BESSIERE J. M. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J.*, v. 18, p. 481–484, 2003.

CASTRO, N. E. A.; CARVALHO, G. J.; CARDOSO, M. G.; PIMENTEL, F. A.; CORREA, R. M.; GUIMARÃES, L. G. L. Avaliação de rendimento e dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.10, n.1, p.70-75, 2008.

COMEX STAT, **Sistema de Estatísticas do Comércio exterior**. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>.

CONDE-HERNANDEZ, L. A.; ESPINOSA-VICTORIA, J. R.; TREJO, A. GUERRERO-BELTRAN, J. A. CO<sub>2</sub>-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Journal of Food Engineering**, v. 200, p. 81-86, 2017.

COPPEN, J. J. W.; HONE, G. A. **NRI Bulletin 56**: Eucalyptus oils: a review of production and markets. 1992, 53 p.

DA SILVA, L. C. P.; PEREIRA, E. A. D.; ESPOSITO, E. P.; DA SILVA, A. F. C.; FARIAS, T. S.; ALVES, M. S.; DOS SANTOS, A. M.; DE SOUZA, M. A. A. Content and Chemical Profile of Essential Oil from Eucalyptus Fresh and Dry Leaves. **Agricultural Research & Technology**, v. 21, n. 2, 2019.

DO, T. K. T.; HADJI-MINAGLOU, F.; ANTONIOTTI, S.; FERNANDEZ, X. Authenticity of essential oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 146–157, 2015.

DOS SANTOS, P. A. B.; MONTI, C. A. U.; DE CARVALHO, L. G.; LACERDA, W. S.; SCHWERZ, F. Air temperature estimation techniques in Minas Gerais state, Brazil, Cwa and Cwb climate regions according to the Köppen-Geiger climate classification system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, 2021.

DUARTE, M. C. T.; DUARTE, R. M. T.; RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N. Essential Oils and Their Characteristics. In: HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M.; SANT'ANA, A. S. **Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications, First Edition**. John Wiley & Sons Ltd, 2018.

EL ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; AÏT ADDI, E. H.; CASABIANCA, H.; EL MOUSADIK, A.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 483, p. 220–243, 2015.

FAOSTAT – **Food and agriculture organization of the United Nations statistics**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>.

FARIA, Bruno de Freitas Homem de. **Characterization and qualification of torrefied biomasses properties during fungal deterioration for energetic purposes**. 2020. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.

FARIA, J. M. S.; LIMA, A. S.; MENDES, M. D.; LEIRIA, R.; GERALDES, D. A.; FIGUEIREDO, A. C.; TRINDADE, H.; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G. Eucalyptus from Mata Experimental do Escaroupim (Portugal): Evaluation of the Essential Oil Composition from Sixteen Species. **Acta Horticulturae**, 2011.

FERREIRA, E.; CAVALCANTI, P.; NOGUEIRA, D. ExpDes: An R Package for ANOVA and Experimental Designs. **Applied Mathematics**, v. 5, p. 2952-2958, 2014.

FIGIEL, A.; SZUMNY, A.; GUTIÉRREZ-ORTÍZ, A.; CARBONELL-BARRACHINA, A. A. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 240–247, 2010.

FILOMENO, C. A.; BARBOSA, L. C. A.; TEIXEIRA, R. R.; PINHEIRO, A. L.; FARIAS, E. S.; SILVA, E M. P.; PICANÇO, M. C. *Corymbia* spp. and *Eucalyptus* spp. essential oils have insecticidal activity against *Plutella xylostella*. **Industrial Crops & Products**, v. 109, p. 374–383, 2017

Food and Agriculture Organization of the Unaided Nations (FAO). **Non-wood products 1: Flavours and fragrances of plant origin**. Rome, 1995. 101 p.

FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; GARCÍA-RISCO, M. R.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 34– 48, 2012.

GALADIMA, M. S.; AHMED, A. S.; OLAWALE, A. S.; BUGAJE, I. M. Optimization of Steam Distillation of Essential Oil of *Eucalyptus tereticornis* by Response Surface Methodology. **Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 20, n. 4, 2012.

GARCÍA, C.; MONTERO, G.; CORONADO, M. A.; VALDEZ, B.; STOYTICHEVA, M.; ROSAS, N.; TORRES, R.; SAGASTE, C. A. Valorization of Eucalyptus leaves by essential oil extraction as an added value product in Mexico. **Waste Biomass Valor**, v. 8, p. 1187–1197, 2017.

HAYES, R. A.; NAHRUNG, H. F.; LEE, D. J. Consequences of Corymbia (Myrtaceae) hybridization on leaf-oil profiles. **Australian Journal of Botany**, v. 61, p. 52–59, 2013.

HERCULANO, E. D.; DE PAULA, H. C. B.; DE FIGUEIREDO, E. A. T.; DIAS, F. G. B.; PEREIRA, V. A. Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated Eucalyptus staigeriana essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 2015, p. 484-491, 2014.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Tabela 6705** - Produção e vendas dos produtos e/ou serviços industriais, segundo as classes de atividades e os produtos. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6705>. Acesso em setembro de 2020.

Instituto Nacional de Meteorologia - INMET. **Sistema Tempo**. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/>

International Organization for Standardization. **ISO 9235:2013** Aromatic natural raw materials — Vocabulary. 14 p, 2013.

JELIAZKOVA, E.; ZHELJAZKOV, V. D.; KAČÁNIOVA, M.; ASTATKIE, T.; TEKWANI, B. L. Sequential Elution of Essential Oil Constituents during Steam Distillation of Hops (*Humulus lupulus* L.) and Influence on Oil Yield and Antimicrobial Activity. **Journal of Oleo Science**, v. 67, n. 7, p. 871-883, 2018.

KANAUIA, P. K.; NAIK, D. V.; TRIPATHI, D.; SINGH, R.; PODDAR, M. K.; KONATHALA, L. M. S. K.; SHARMA, Y. K. Pyrolysis of *Jatropha Curcas* seed cake followed by optimization of liquid-liquid extraction procedure for the obtained bio-oil. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 118, p. 202-224, 2016.

KAZAZ, S.; ERBA, S.; BAYDAR, H. The effects of storage temperature and duration on essential oil content and composition oil rose (*Rosa damascena* Mill.). **TURKISH J. OF FIELD CROPS**, v. 14, n. 2, p. 89-96, 2009.

KHAYYAT, S. A.; ROSELIN, L. S. Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 22, p. 855–875, 2018.

KIM, S.; CHEN, J.; CHENG, T.; GINDULYTE, A.; HE, J.; HE, S.; LI, Q.; SHOEMAKER, B. A.; THIESSEN, P. A.; YU, B.; ZASLAVSKY, L.; ZHANG, J.; BOLTON, E. E. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 49, p. 388–395, 2021.

KING, D. J.; GLEADOW, R. M.; WOODROW, I. E. Regulation of oil accumulation in single glands of *Eucalyptus polybractea*. **New Phytologist**, v. 172, p. 440–451, 2006.

LEICACH, S. R.; GARAU, A. M.; GUARNASCHELLI, A. B.; GRASS, M. A. Y.; SZTARKER, N. D.; DATO, A. Changes in *Eucalyptus camaldulensis* essential oil composition

as response to drought preconditioning. **Journal of Plant Interactions**, v. 5, n. 3, p. 205-210, 2010.

LIU, H.; AN, K.; SU, S.; YU, Y.; WU, J.; XIAO, G.; YUJUAN XU, Y. Aromatic Characterization of Mangoes (*Mangifera indica* L.) Using Solid Phase Extraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Olfactometry and Sensory Analyses. **Foods**, v. 9, n. 75, 2020.

LUZ, O. S. L.; HONÓRIO, A. B. M.; FIDELIS, R. R.; DO NASCIMENTO, I. R.; DE MORAES, C. B.; LEAL, T. C. A. B. Characteristics for the selection of parents of *Corymbia citriodora* aiming to the production of wood and essential oil. **Revista Árvore**, 2018, v. 42, n. 1, 2018.

MANIKA, N.; MISHRA, P.; KUMAR, N.; CHANOTIYA, C. S.; BAGCHI, G. D. Effect of season on yield and composition of the essential oil of *Eucalyptus citriodora* Hook. leaf grown in sub-tropical conditions of North India. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 14, p. 2875-2879, 2012.

MORENO, J.; LÓPEZ, G.; SICHE, R. Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). **Scientia Agropecuaria**, v. 1, p. 147 - 154, 2010.

National Institute of Standards and Technology (NIST). **Single Crystal Diffractometer Alignment Standard** - Ruby Sphere, 1990.

PAULETTI, G. F.; SILVESTRE, W. P. **Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento**. In: EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). *Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas*. 1. ed. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDPA, 2018.

PEREIRA, R. A.; FILHO, E. B.; MOURA, R. G. Rendimento de óleo essencial de *Corymbia citriodora* Hill & Johnson sob diferentes níveis de infestação de galhas de *Epichrysocharis burwelli* schauff (hymenoptera, eulophidae) *Revista de Agricultura*, v.87, n.1, p. 10 – 17, 2012.

PÉRINO-ISSARTIER, S.; GINIES, C.; CRAVOTTO, G.; CHEMAT, F. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 41– 47, 2013.

PIMENTEL, F. A. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 373-375, 2006.

PINO, J. A.; MARBOT, R.; QUERT, R.; GARCÍA, H. Study of essential oils of *Eucalyptus resinifera* Smith, *E. tereticornis* Smith and *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson, grown in Cuba. **Flavour Fragr. J.**, v. 17, p. 1–4, 2002.

PRINS, C. L.; VIEIRA, I. J. C.; FREITAS, S. P. Growth regulators and essential oil production. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 22, n. 2, p. 91-102, 2010.

- RADWAN, M. N.; MORAD, M. M.; ALI, M. M.; WASFY, K. I. Extraction of peppermint volatile oil using a simple constructed steam distillation system. **Plant Archives**, v. 20, p. 1487-1491, 2020.
- RAJESWARA RAO, B. R.; KAUL, P. N.; SYAMASUNDAR, K. V.; RAMESH, S. Comparative composition of decanted and recovered essential oils of *Eucalyptus citriodora* Hook. **Flavour and fragrance journal**, V. 18, p. 133–135, 2003
- RASSEM, H. H. A.; NOUR, A. H.; YUNUS, R. M. Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 10, n. 16, p. 117-127, 2016.
- RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250–264, 2014.
- REHMAN, R.; HANIF, M. A.; MUSHTAQ, Z.; MOCHONA, B.; QI, X. Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 4, n. 4, 2016.
- REIS, C. A. F.; ASSIS, T. F.; SANTOS, A. M.; FILHO, E. P. *Corymbia citriodora*: estado da arte de pesquisas no Brasil. **Embrapa Florestas**, 2013.
- REYES, E. I. M.; FARIAS, E. S.; SILVA, E. M. P.; FILOMENO, C. A.; PLATA, M. A. B.; PICANÇO, M. C.; BARBOSA, L. C. A. *Eucalyptus resinifera* essential oils have fumigant and repellent action against *Hypothenemus hampei*. **Crop Protection**, v. 116, p. 49–55, 2019.
- RIBEIRO, A. V.; FARIAS, E. S.; SANTOS, A. A.; FILOMENO, C. A.; DOS SANTOS, I. B.; BARBOSA, L. C. A.; PICANÇO, M. C. Selection of an essential oil from *Corymbia* and *Eucalyptus* plants against *Ascia monuste* and its selectivity to two non-target organisms. **Crop Protection**, v. 110, p. 207-213, 2018.
- SALEHI, B.; SHARIFI-RAD, J.; QUISPE, C.; LLAIQUE, H.; VILLALOBOS, M.; SMERIGLIO, A.; ROMBETTA, D.; EZZAT, S. M.; SALEM, M. A.; ZAYED, A.; CASTILLO, C. M. S.; YAZDI, S. E.; SEN, S.; ACHARYA, K.; SHAROPOV, F.; MARTINS, N. Insights into *Eucalyptus* genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 609–624, 2019.
- SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. A.; ABREU, C. M. P. & PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, n. 27, p. 249-254, 2003.
- SALGUEIRO, L.; MARTINS, A. P.; CORREIA, H. Raw materials: the importance of quality and safety. A review. **Flavour Fragr. J.** v. 25, p. 253–271, 2010.
- SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3–21, 2001.
- SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; NETO, O. G. R. **Comunicado Técnico 99**: Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e

Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 6 p. 2004.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, p. 712–732, 2008.

SOUZA, A. R. R.; MIRANDA, G. V.; PEREIRA, M. G.; DE SOUZA, L. V.; FERREIRA, P. L. Agronomic performance of white maize landrace in different environmental conditions. **Ceres**, v. 55, n. 6, 2008.

SPEZIALI, M. G. De aromas e perfumes, o mercado da indústria do “cheiro”. **Quim. Nova**, v. 35, n. 4, p. 861-864, 2012.

SULTANA, S.; ALI, M.; ANSARI, S. H.; BAGRI, P. The Effect of Physical Factors on Chemical Composition of the Essential Oil of Eucalyptus citriodora Hook. Leaves. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 11, n. 1, p. 69-74, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 2013. 952 p.

TOLBA, H.; MOGHRANI, H.; BENELMOUFFOK, A.; KELLOU, D.; MAACHI, R. Essential oil of Algerian Eucalyptus citriodora: Chemical composition, antifungal activity. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 25, p. 128-133, 2015.

TRONCOSO, C.; BECERRA, J.; BITTNER, M.; PEREZ, C.; SÁEZ, K.; SÁNCHEZ-OLATE, M.; RÍOS, D. Chemical defense responses in Eucalyptus globulus (Labill) PLANTS. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 56, n. 3, p. 768-770, 2011.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, 2013.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, p. 105–113, 2015.

VERNIN, G. A.; PARKANYI, C.; COZZOLINO, F.; FELLOUS, R. GC/MS Analysis of the Volatile Constituents of Corymbia citriodora Hook. from Réunion Island. **J. Essent. Oil Res.**, 16, 560-565, 2004.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Avaliação do rendimento e do teor de citronelal do óleo essencial de procedências e raças locais de Eucalyptus citriodora. **SCIENTIA FORESTALIS**, n. 56, p. 145-154, dez. 1999.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Documentos florestais n. 17: Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba: IPEF, 2003. 26 p.

VIVAN, G. A.; BARBOZA, F. S.; DA LUZ, M. L. G. S.; DA LUZ, C. A. S.; PEREIRA-RAMIREZ, O.; GOMES, M. C.; SOARES, F. C. Estudo técnico e econômico de um sistema móvel de extração de óleo essencial de eucalipto. **Cerne**, v. 17, n. 1, p. 23-31, 2011.

YOUSEFI, M.; RAHIMI-NASRABADI, M.; POURMORTAZAVI, S. M.; WYSOKOWSKI, M.; JESIONOWSKI, T.; EHRLICH, H.; MIRSADEGHI, S. Supercritical fluid extraction of essential oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p.182-193, 2019.

ZHELJAZKOV, V. D.; ASTATKIE, T.; SCHLEGEL, V. Hydrodistillation extraction time effect on essential oil yield, composition, and bioactivity of coriander oil. *Journal of oleo science*, v. 12, 2014.

## APÊNDICES

### Apêndice A: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas na extração de óleo essencial de folhas de *Corymbia citriodora*

Gráfico 1 - CG-EM da extração com 1 hora e 0,5 Kg

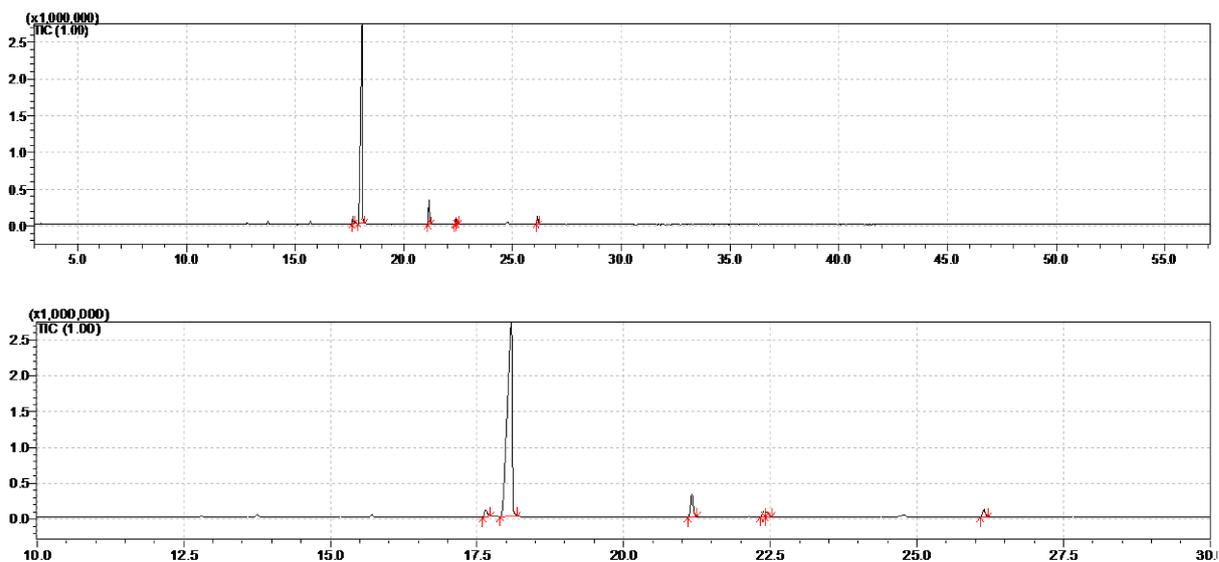


Tabela 1 - CG-EM da extração com 1 hora e 0,5 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	1,84
Citronelal	18,08	87,41
$\beta$ -Citronelol	21,16	6,06
1,7-Octanediol	22,33	2,74
2-Ciclohepten-1-ona	26,14	1,95

Gráfico 2 - CG-EM da extração com 1 hora e 1,0 Kg

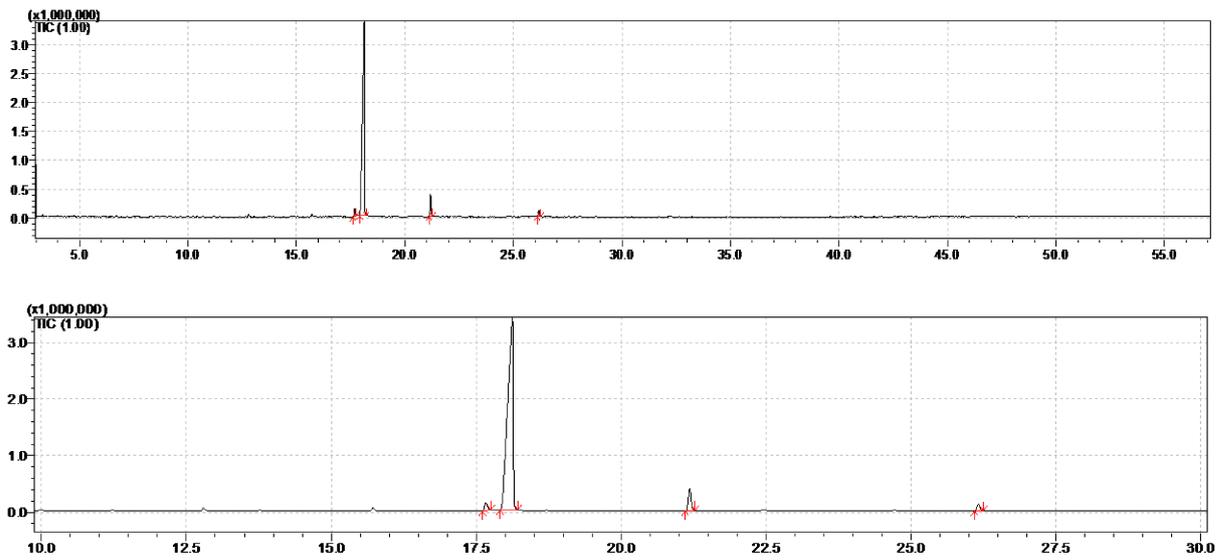


Tabela 2 - CG-EM da extração com 1 hora e 1,0 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,66	1,98
Citronelal	18,12	91,01
$\beta$ -Citronelol	21,18	5,35
2-Ciclohepten-1-ona	26,16	1,66

Gráfico 3 - CG-EM da extração com 1 hora e 1,5 Kg

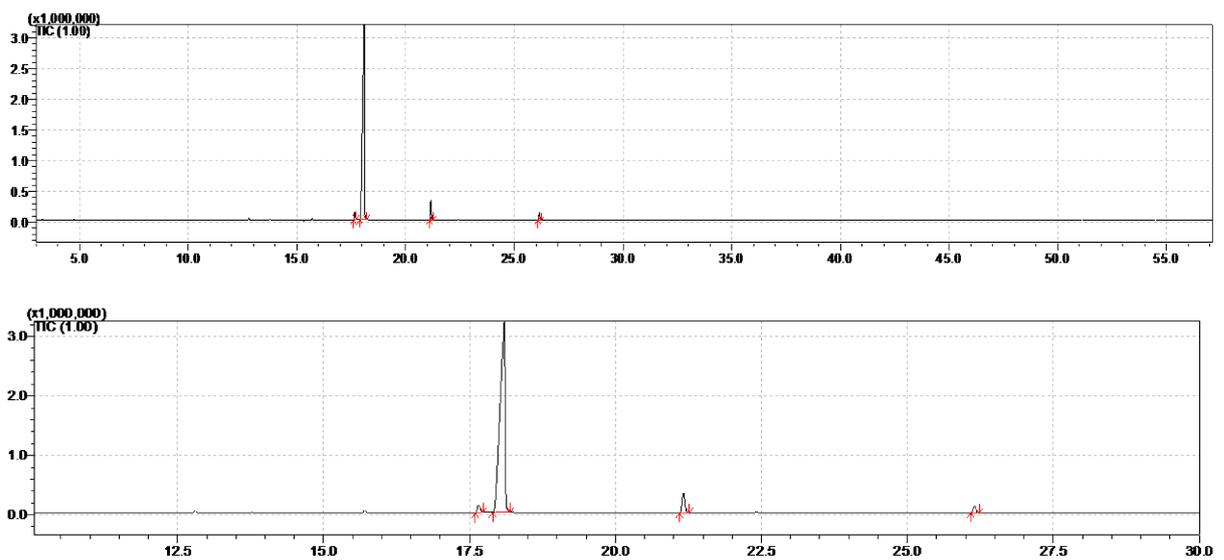


Tabela 3 - CG-EM da extração com 1 hora e 1,5 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	2,05
Citronelal	18,09	90,80
$\beta$ -Citronelol	21,16	5,26
2-Ciclohepten-1-ona	26,15	2,89

Gráfico 4 - CG-EM da extração com 2 horas e 0,5 Kg

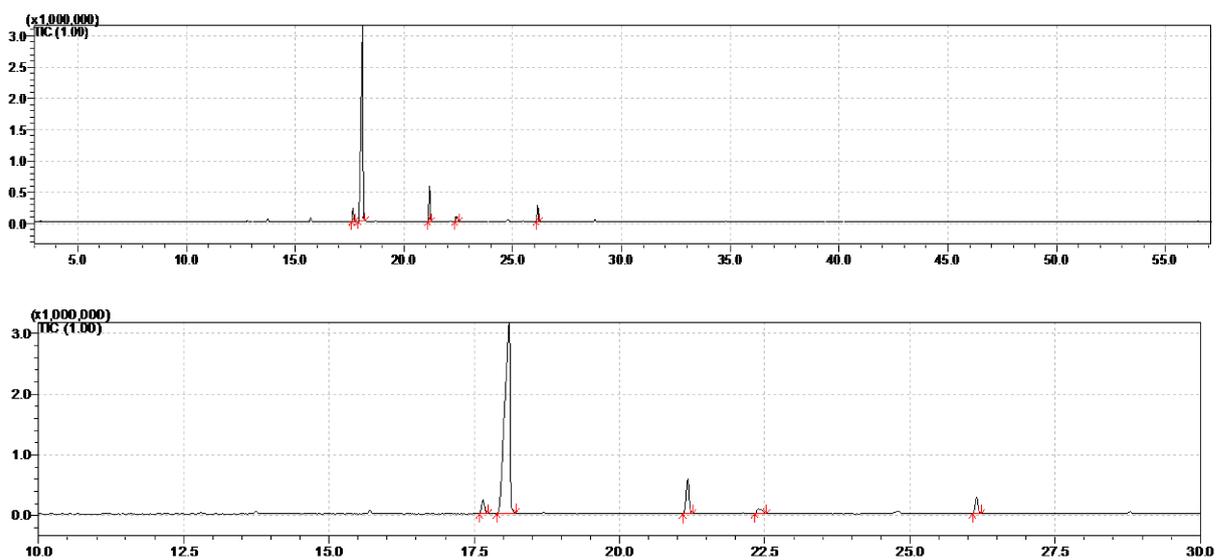


Tabela 4 - CG-EM da extração com 2 horas e 0,5 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	3,19
Citronelal	18,10	82,99
$\beta$ -Citronelol	21,17	8,11
1,7-Octanediol	22,38	2,00
2-Ciclohepten-1-ona	26,14	3,71

Gráfico 5 - CG-EM da extração com 2 horas e 1,0 Kg

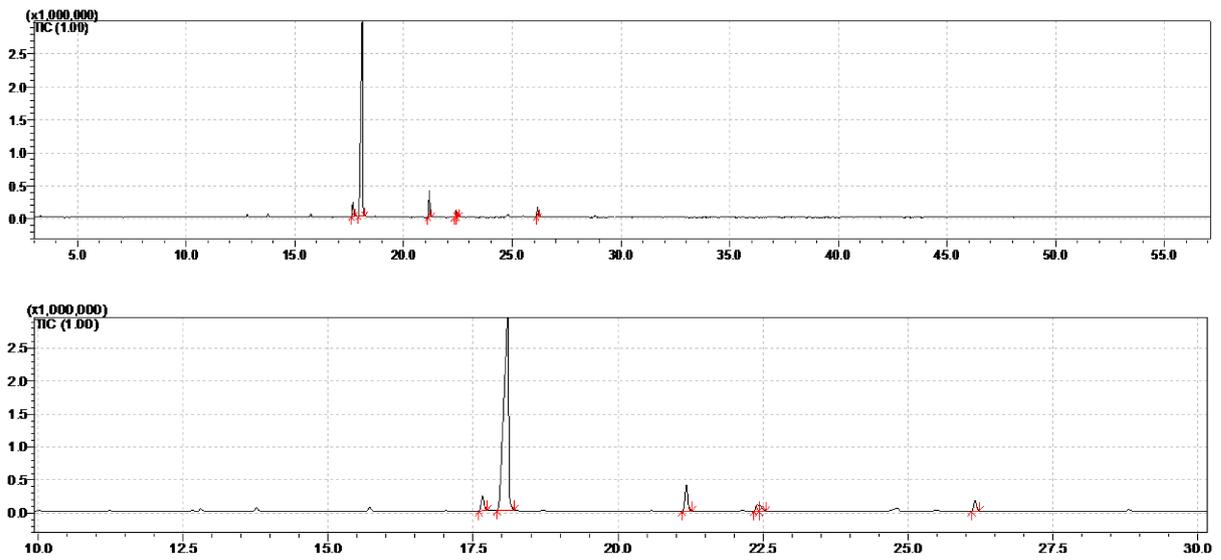


Tabela 5 - CG-EM da extração com 2 horas e 1,0 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,66	3,76
Citronelal	18,09	84,39
$\beta$ -Citronelol	21,18	6,43
1,7-Octanediol	22,40	2,86
2-Ciclohepten-1-ona	26,16	2,56

Gráfico 6 - CG-EM da extração com 2 horas e 1,5 Kg

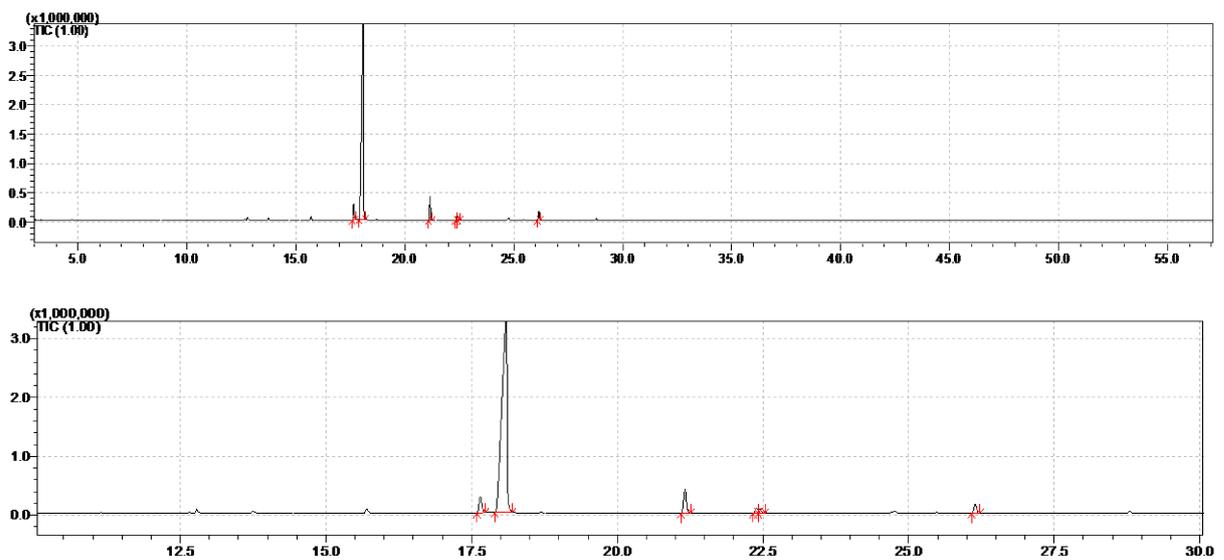


Tabela 6 - CG-EM da extração com 2 horas e 1,5 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	4,05
Citronelal	18,09	86,04
$\beta$ -Citronelol	21,16	5,65
1,7-Octanediol	22,38	2,06
2-Ciclohepten-1-ona	26,14	2,20

Gráfico 7 - CG-EM da extração com 3 horas e 0,5 Kg

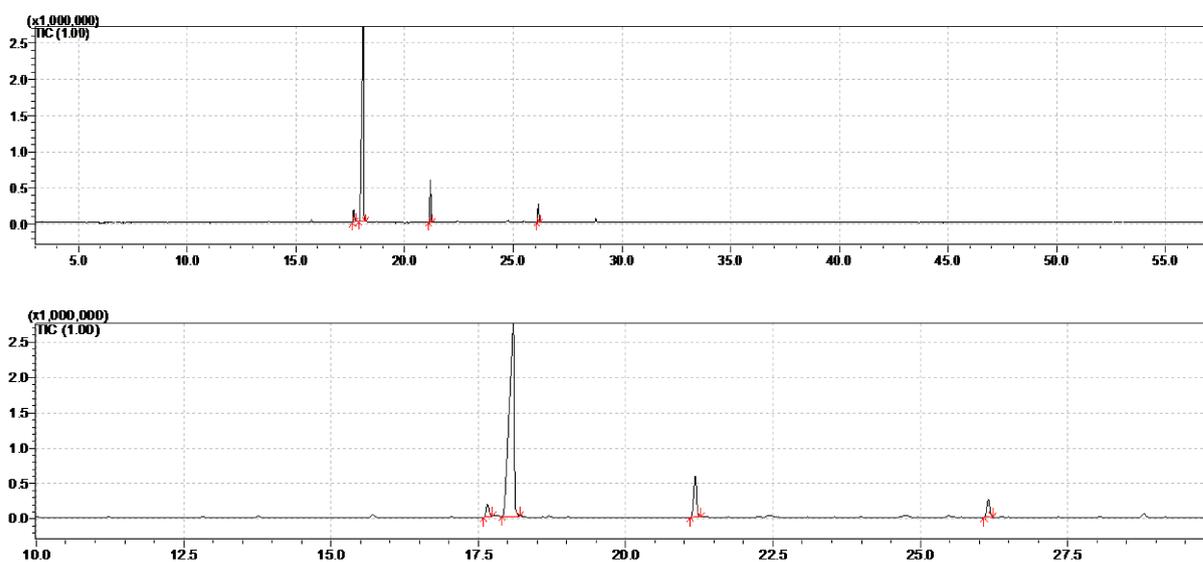


Tabela 7 - CG-EM da extração com 3 horas e 0,5 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	3,19
Citronelal	18,09	81,87
$\beta$ -Citronelol	21,18	10,43
2-Ciclohepten-1-ona	26,15	4,51

Gráfico 8 - CG-EM da extração com 3 horas e 1,0 Kg

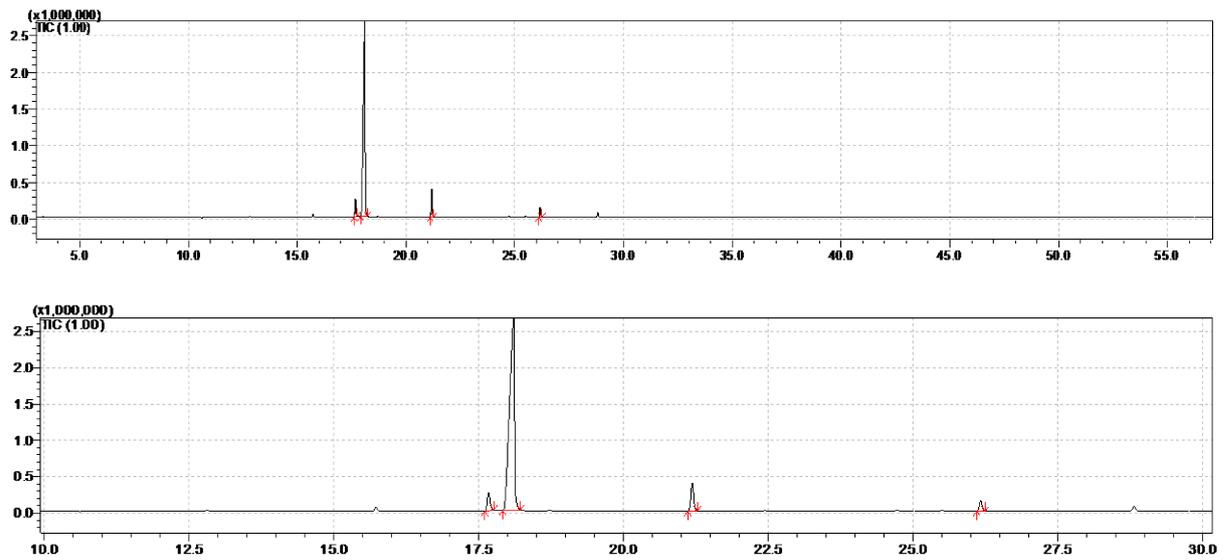


Tabela 8 - CG-EM da extração com 3 horas e 1,0 Kg

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,67	4,55
Citronelal	18,10	85,82
$\beta$ -Citronelol	21,18	7,01
2-Ciclohepten-1-ona	26,16	2,62

Gráfico 9 - CG-EM da extração com 3 horas e 1,5 Kg

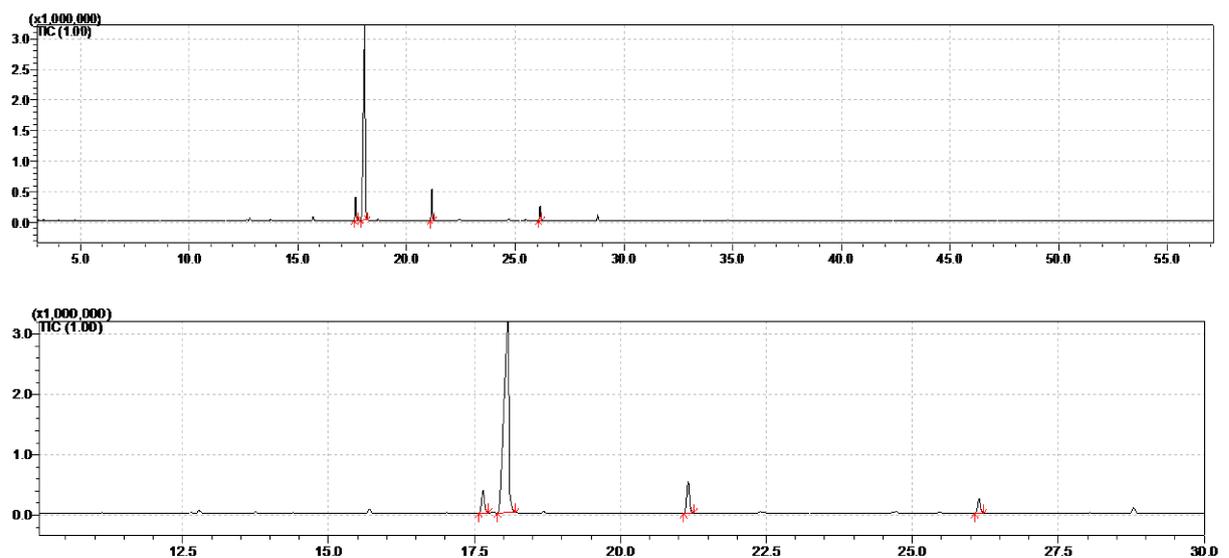
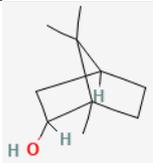
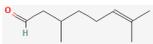
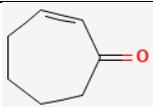


Tabela 9 - CG-EM da extração com 3 horas e 1,5 Kg

<b>Composto</b>	<b>Tempo de Retenção</b>	<b>% área</b>
Borneol	17,64	5,65
Citronelal	18,07	83,20
$\beta$ -Citronelol	21,18	7,71
2-Ciclohepten-1-ona	26,16	3,44

## Apêndice B: Tabela das propriedades dos componentes do óleo essencial

Tabela 1 - Características químicas dos componentes do óleo essencial (KIM et al., 2021)

Componente	Estrutura	Fórmula molecular	Massa molar	Densidade	Ponto de ebulição	Solubilidade
Borneol		$C_{10}H_{18}O$	154,25	1.011 g/cm <sup>3</sup> em 20 °C	212 °C	Insolúvel em água; muito solúvel em etanol
Citronelal		$C_{10}H_{18}O$	154,25	0,853 g/cm <sup>3</sup> em 20 °C	205 °C	Pouco solúvel em água. Solúvel em etanol.
$\beta$ -Citronelol		$C_{10}H_{20}O$	156,26	0,8550 g/cm <sup>3</sup> em 20 °C	224 °C	ligeiramente solúvel em água; solúvel em etanol
Hidroxicitronelol		$C_{10}H_{22}O_2$	174,28	0,922-0,930 g/cm <sup>3</sup>	265 °C	ligeiramente solúvel em água; solúvel em álcool
2-Ciclohepten-1-ona		$C_7H_{10}O$	110,15	-	-	-

**Apêndice C: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas no óleo essencial após o armazenamento de folhas de *Corymbia citriodora***

Gráfico 1 – CG-EM do tratamento testemunha

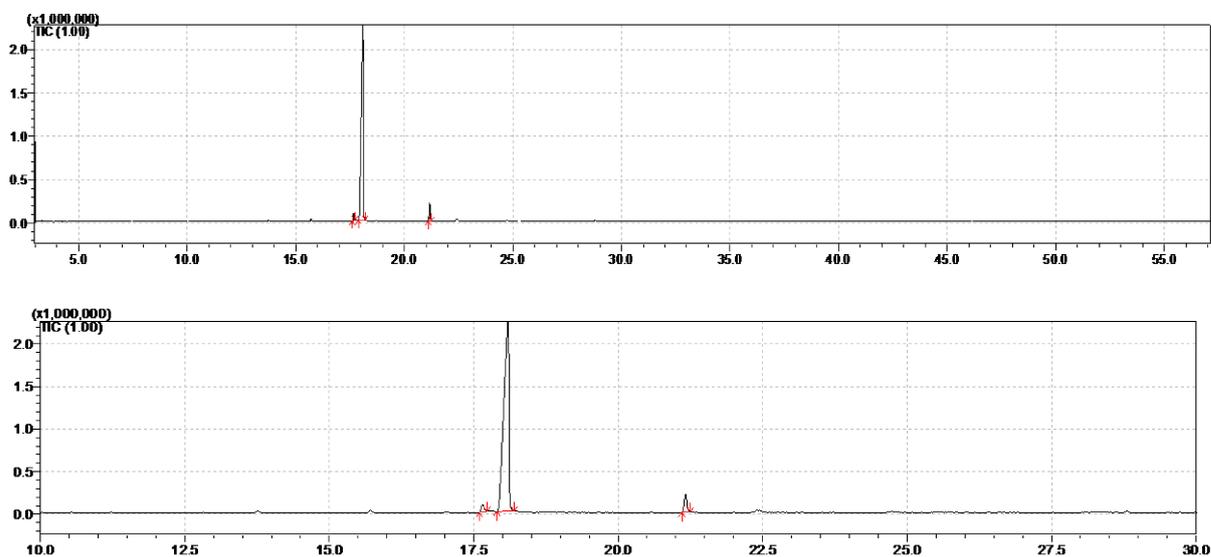


Tabela 1 – CG-EM do tratamento testemunha

<b>Composto</b>	<b>Tempo de Retenção</b>	<b>% área</b>
Borneol	17,65	1,91
Citronelal	18,09	93,48
$\beta$ -Citronelol	21,16	4,61

Gráfico 2 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 1 semana de armazenamento

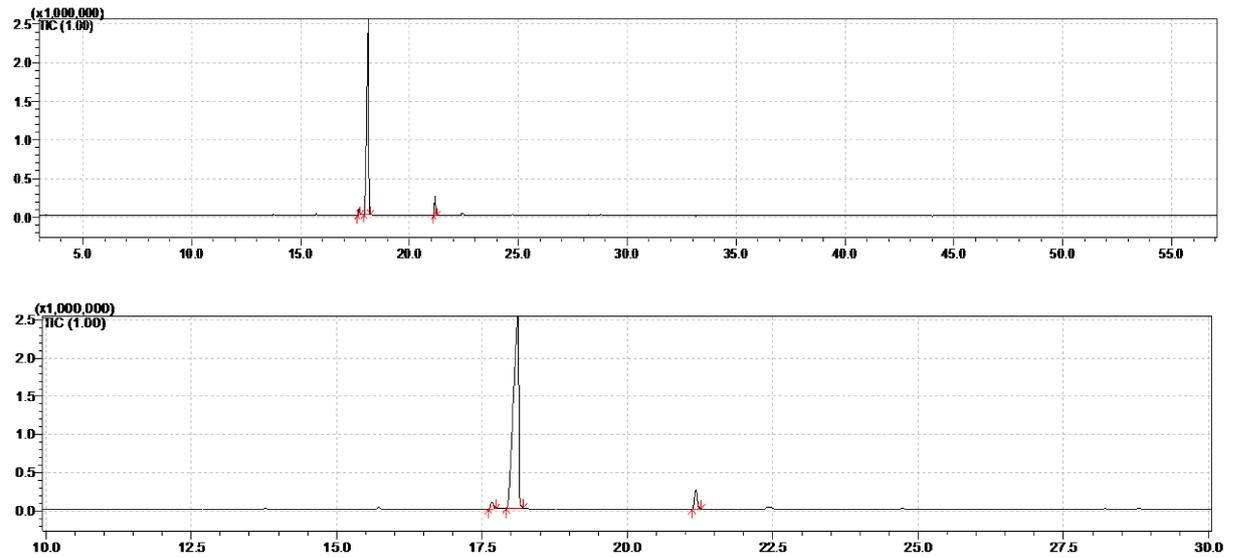


Tabela 2 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 1 semana de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,66	1,73
Citronelal	18,11	93,35
$\beta$ -Citronelol	21,17	4,92

Gráfico 3 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 2 semanas de armazenamento

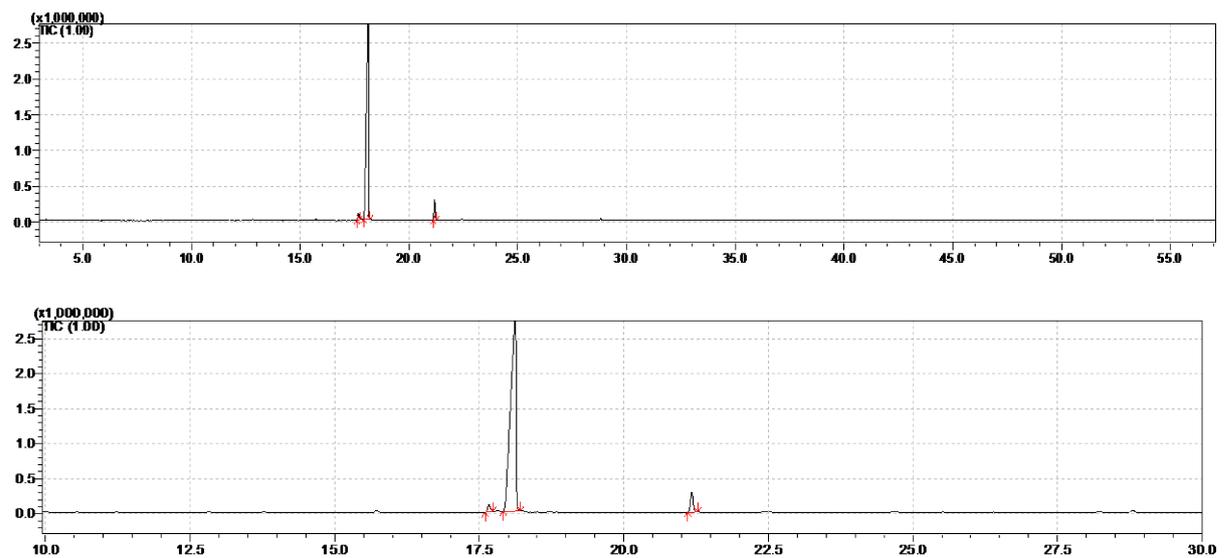


Tabela 3 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 2 semanas de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,66	1,71
Citronelal	18,12	93,42
$\beta$ -Citronelol	21,17	4,87

Gráfico 4 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 3 semanas de armazenamento

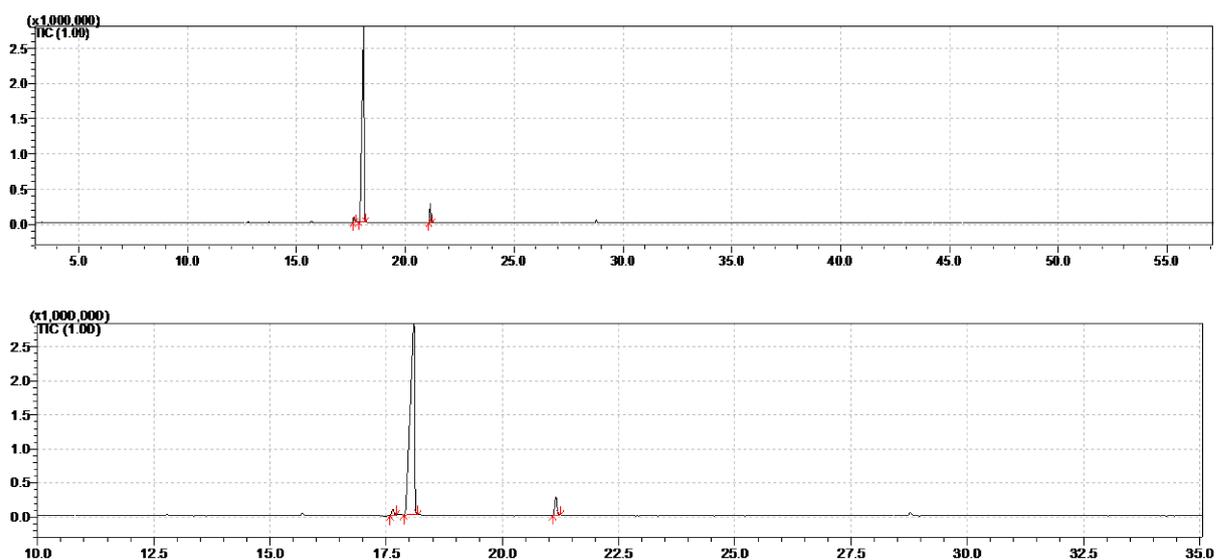


Tabela 4 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 3 semanas de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,64	1,46
Citronelal	18,09	93,83
$\beta$ -Citronelol	21,15	4,71

Gráfico 5 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 4 semanas de armazenamento

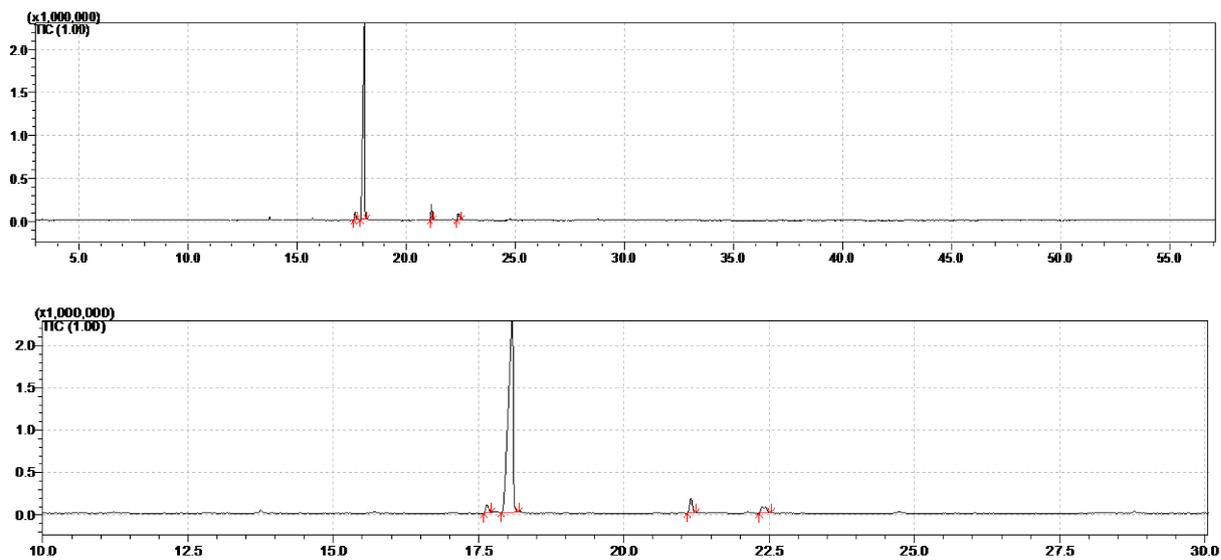


Tabela 5 – CG-EM do tratamento não refrigerado com 4 semanas de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,64	2,14
Citronelal	18,08	90,82
$\beta$ -Citronelol	21,15	3,86
1,7-Octanediol	22,38	3,18

Gráfico 6 – CG-EM do tratamento refrigerado com 1 semana de armazenamento

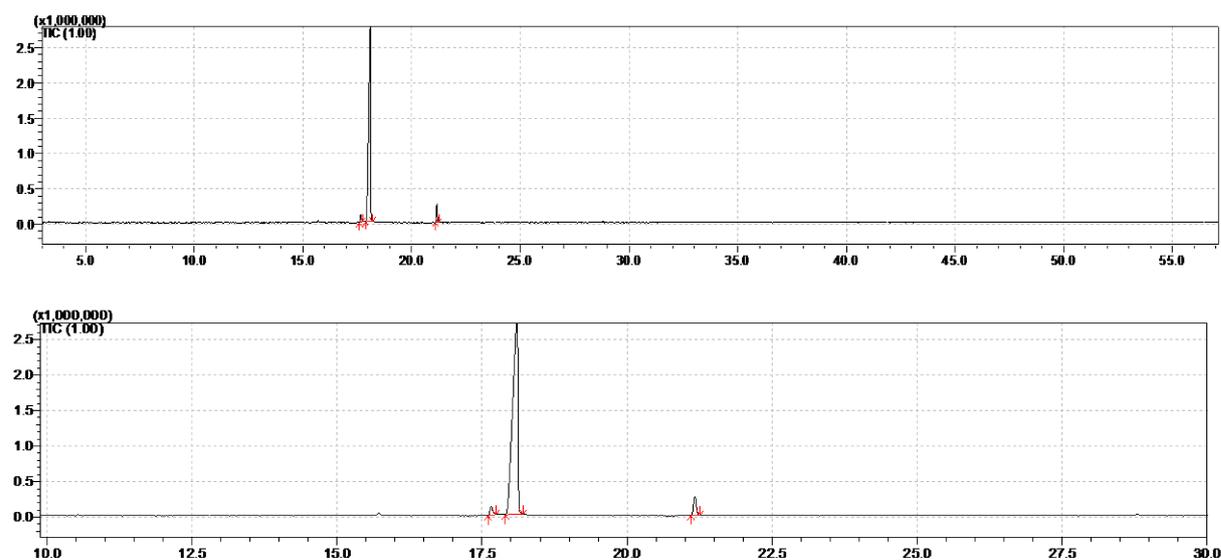


Tabela 6 – CG-EM do tratamento refrigerado com 1 semana de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,65	2,14
Citronelal	18,16	93,35
$\beta$ -Citronelol	21,16	4,51

Gráfico 7 – CG-EM do tratamento refrigerado com 2 semanas de armazenamento

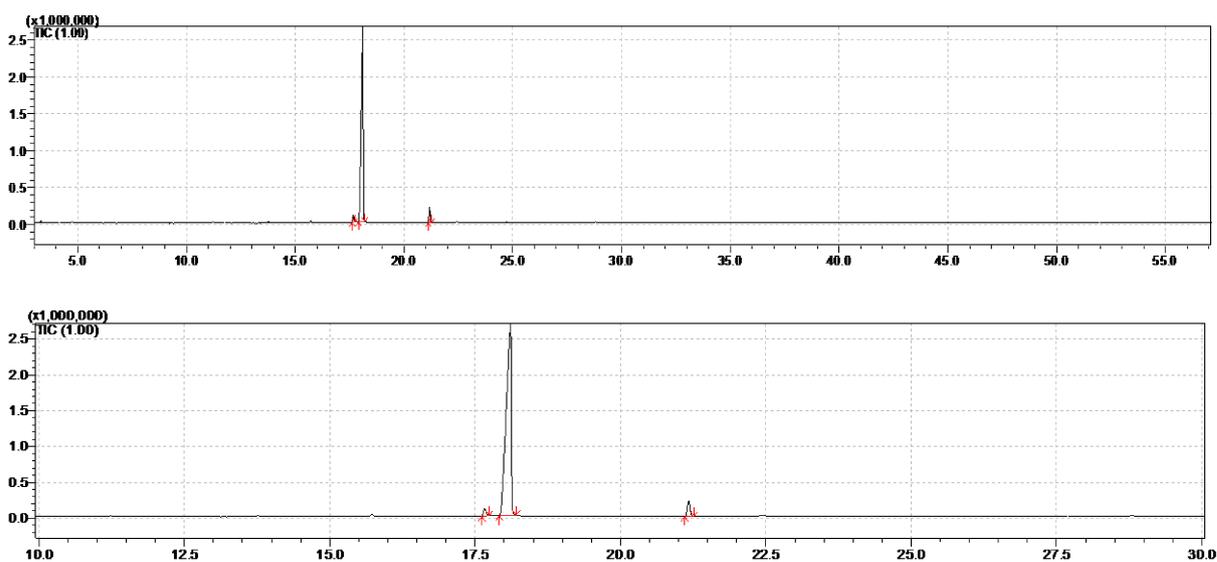


Tabela 7 – CG-EM do tratamento refrigerado com 2 semanas de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,66	1,97
Citronelal	18,10	93,89
$\beta$ -Citronelol	21,17	4,14

Gráfico 8 – CG-EM do tratamento refrigerado com 3 semanas de armazenamento

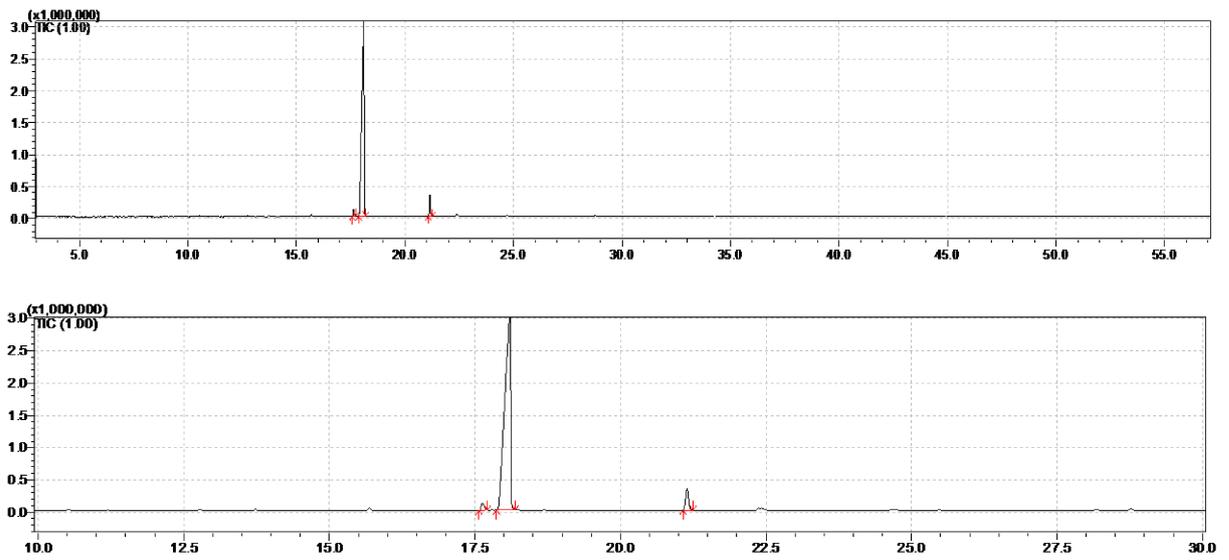


Tabela 8 – CG-EM do tratamento refrigerado com 3 semanas de armazenamento

Composto	Tempo de Retenção	% área
Borneol	17,63	1,71
Citronelal	18,10	93,52
$\beta$ -Citronelol	21,14	4,77

Gráfico 9 – CG-EM do tratamento refrigerado com 4 semanas de armazenamento

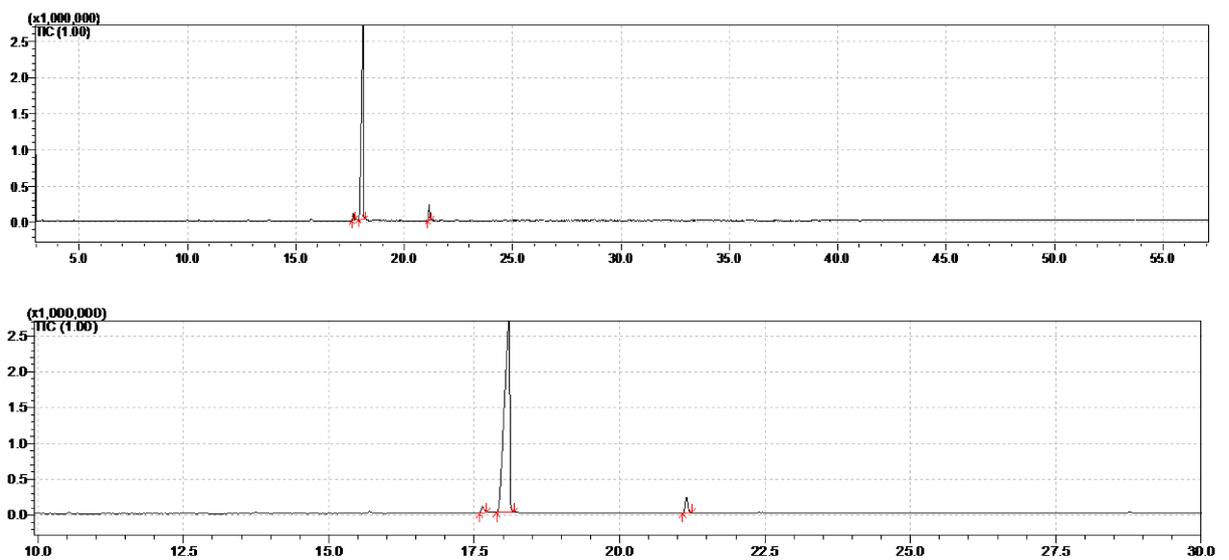


Tabela 9 – CG-EM do tratamento refrigerado com 4 semanas de armazenamento

<b>Composto</b>	<b>Tempo de Retenção</b>	<b>% área</b>
Borneol	17,64	1,64
Citronelal	18,09	94,46
$\beta$ -Citronelol	21,15	3,90