



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DAS CASCAS DE *CITRUS sinensis* (L.)

DA SILVA¹, Vitor Hugo Neves DE SOUZA¹, Celine Menezes, DA SILVA¹, Rafaela Rolim, TRINDADE¹, Ívina Thayná Miranda, DO CARMO¹ Dominique Fernandes de Moura.

¹Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia – Universidade Federal do Amazonas Rua Nossa Senhora do Rosário, 3683 – Tiradentes – Itacoatiara/AM hugor__ns@hotmail.com, cmdsufam20@gmail.com, Rafaelasillva097@gmail.com ivinamiranda.17@gmail.com, dominiquefmc@ufam.edu.br

Palavras Chave: Laranja, cascas, extração, óleo essencial.

INTRODUÇÃO

Os radicais livres podem ser conceituados como qualquer espécie independente que possui um ou mais elétrons desemparelhados, caráter que os torna altamente instáveis, reativos e de vida curta (SANTOS; CRUZ, 2001). Estas espécies são formadas e liberadas de forma natural e recorrente pelo organismo devido, principalmente, ao metabolismo normal do oxigênio, o que consequentemente promove o desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante (BUCHLI, 2001). Assim, os antioxidantes são os agentes encarregados de inibir e reduzir os danos causados pelos radicais livres nas células através de diversos mecanismos (VASCONCELOS et al., 2014). No entanto, quando há o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes podem ser ocasionadas doenças degenerativas, envelhecimento e morte celular (SINHORINI, 2013; SIES, 1993).

Os antioxidantes são constituídos por diferentes grupos químicos, que consequentemente, os faz apresentar estruturas e propriedades distintas (DÍAS-REINOSO et al., 2006). Estas substâncias capazes de sequestrar radicais livres são produzidas pelo organismo vivo, assim como, podem ser adquiridas por meio de fontes externas, como alimentos, estes que são excelentes fontes de antioxidantes naturais, e bebidas (ALVES et al., 2010). As frutas cítricas, por exemplo, como limão, tangerina e, especialmente, a laranja, são grandes fontes de fibras e vitaminas e seu consumo *in natura* e seus sucos são ricos em antioxidantes (SINHORINI, 2013; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). O potencial antioxidante deste grupo pode ser justificado pela presença de flavonóis, flavanóis, antocianinas e fenilpropanóides (JAYAPRAKASHA; GIRENNAVAR; PATIL, 2008). A laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), pertencente à família Rutaceae, se configura como a principal espécie cítrica cultivada no Brasil (MATO JUNIOR et al., 2005). Os óleos essenciais (OE) da laranja podem conter até 300 compostos, os quais são substâncias voláteis e lipofílicas (ARAÚJO, 2016). Diversos estudos apontam como principais constituintes deste óleo o composto D-limoneno, seguido do linalol ou β -mirceno, α -pineno, entre outros (ASSUNÇÃO, 2013).

O OE da laranja, bem como seus extratos, possui resultados indicativos de seu potencial antioxidante. Em estudo realizado com as folhas de *C. sinensis*, efetuado por Araújo e colaboradores (2018), foi identificado que o extrato etanólico desta espécie possui elevada ação antioxidante frente ao radical de DPPH. Outros estudos também confirmaram o potencial antioxidante de espécies do



gênero *Citrus*, em um estudo realizado por Singh et al. (2010) foi comprovada a atividade antioxidante de *C. máxima* Burm. e *C. sinensis* (L.) Osbeck frente ao radical DPPH, obtendo-se IC₅₀ de 8,85 µl/mL e 9,45 µl/mL, respectivamente, correspondendo a um percentual de inibição em torno de 60%.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antioxidante e a composição química do óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* (L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais vegetais (frutos) da espécie *C. sinensis* foram coletados no mês de novembro de 2019 em um sítio no Rio Preto da Eva. Os frutos foram levados ao laboratório de Química do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET/UFAM) para a retirada do pericarpo (cascas) e extração do óleo essencial.

O óleo essencial das cascas da laranja foi obtido por meio do método de hidrodestilação por arraste a vapor utilizando um aparelho do tipo Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo de 12000 mL, com uma manta aquecedora (Fisatom – mod. 407) a uma temperatura inicial de 5°C. A extração foi realizada com 400g do material vegetal, ainda fresco, submetidos a aquecimento direto com 5000mL de água destilada durante 4 horas. Após a extração, as amostras obtidas foram direcionadas a centrifuga (modelo 80-2B, centrifuge 2013). A separação do óleo foi realizada com auxílio de uma micropipeta e em seguida a amostra foi depositada em frasco eppendorf com o seguinte código de identificação, OE-Cs (Óleo essencial de *Citrus sinensis*). Por fim, a amostra foi sujeita a refrigeração para evitar perdas de constituintes voláteis.

Os constituintes do OE obtido, foram analisados na Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) do tipo QP2010 da Shimadzu, equipado por uma coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,25µm. A caracterização química foi fundamentada nos índices de Kovats, calculado em relação aos tempos de retenção de padrões n-alcenos, nos fragmentos observados nos espectros de massas e comparação desses com a literatura (ADAMS, 2007).

Para análises do potencial antioxidante é recomendado o uso de dois ou mais ensaios para que se reconheça as variações de resposta dos componentes extraídos (FERRONATTO; ROSSI, 2018). Neste estudo, foi avaliado o potencial antioxidante do OE-Cs através da metodologia de DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil).

Para a realização do ensaio de DPPH, foram adicionadas 100 µL da amostra estoque, anteriormente preparada a 1900 µL da solução de DPPH (100 µM) em uma microplaca, que posteriormente foi incubada em ambiente escuro por 30 min. Após esse período, foi feita a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro de ultravioleta visível a 515 nm (UV-Vis). Foi feita uma curva padrão de Trolox de 100 a 2000 µM ($y = -0,0003x + 0,6471$, $R^2 = 0,9973$). Os resultados foram expressos em µM de Equivalentes de Trolox (MOLYNEUX, 2004; RE et al., 1999).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

O OE-Cs, obtido pelo método de extração por hidrodestilação, apresentou um aspecto homogêneo, oleoso, incolor, límpido e com forte aroma cítrico, o rendimento obtido foi de **2,05%**.

A amostra foi analisada por CG-MS e assim foram detectados 33 compostos correspondendo a 100% de sua composição, as áreas dos constituintes variaram de 0,15 a 12,47% destacando-se, monoterpenos, sesquiterpenos oxigenados e hidrogenados.

Analisando o perfil químico, constata-se que o OE-Cs apresentou predominância de monoterpenos hidrogenados, com rendimento de 36,4%, sesquiterpenos hidrogenados (27,3%), sesquiterpenos oxigenados (24,2%) e uma fração de monoterpenos oxigenados (12,1%).

Foram identificados 9 constituintes majoritários, o β -Citroneleno (7,33%), Santeno (4,09%) e trans-Pineno (9,63%), pertencentes a classe dos monoterpenos hidrogenados; os monoterpenos oxigenados, Car-3-em-2-one (8,43%), Eugenol (4,24%) e Limoneno-10-ol (8,26%); e os sesquiterpenos hidrogenados, α -Humuleno (10,52%), α -neo-Cloveno (4,83%) e o β -Acoradieno (12,47%). Dentre estes constituintes o Limoneno é mencionado como dominante em diversos estudos nacionais e internacionais do OE da laranja, ou seja, é o principal constituinte majoritário identificado (LEÃO, 2015; GOMES, 2011;).

Os constituintes identificados em menor percentual - α -Pineno, β -Pineno, Linalol, e o Sabineno - são considerados compostos de grande representatividade na amostra de OE da espécie *C. sinensis* mesmo quando em baixas concentrações (MARTINS, 2016; FERRONATTO; ROSSI, 2018; Velázquez-Nuñez et al. 2013).

Em estudo sobre composição química dos óleos essenciais do pericarpo (casca dos frutos) e folhas de *Citrus aurantium* Lineu (laranja amarga) e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (laranja doce), WOLFFENBÜTTEL (2014), constatou que linalol está em maior quantidade nas folhas e em menor quantidade no pericarpo.

Santos (2020) enfatiza que os compostos secundários podem ser encontrados em baixas concentrações, mas são compostos essenciais, visto que em conjunto com o limoneno, atuam em atividades microbianas, antifúngicas e antioxidantes. O mirceno, é um componente majoritário, bastante mencionado na literatura, que não foi detectado neste estudo. No entanto, é importante destacar que o genótipo da planta é um fator determinante do conteúdo do óleo essencial, assim a sua composição pode variar entre espécies ou variedades. Outros fatores, como fertilização, origens ambientais, data da colheita, variedades e o processo de extração podem influenciar nas diferenças de composição e até mesmo no teor do OE (BORSATO, 2008; GOUNARIS, 2010). E ainda, outro fator de influência da composição é o rendimento do OE obtido no tempo de extração (GOMES et al., 2020).

Por sua vez, o composto secundário γ -terpineno é um componente comum dos óleos da casca de frutas cítricas. No entanto, de acordo com Njoroge e colaboradores (2005), diferente do que ocorreu neste estudo, este constituinte não tem sido relatado na maioria dos óleos de laranja doce. Em



contrapartida, esta substância já foi identificada no óleo essencial de outras espécies pertencentes ao gênero *Citrus*, tais como *C. aurantium*, *C. limon* e *C. reticulata* (ARAÚJO JUNIOR, 2009; MARTINS, 2016; SIQUEIRA et al., 2020).

Wang e colaboradores (2008) afirmam que os efeitos de um óleo essencial não podem ser atribuídos apenas a um ou um pequeno conjunto de componentes, pois mesmo aqueles de menor concentração são de suma importância para a atividade do óleo.

No método de sequestro de radicais livres DPPH foi observada uma melhor atividade antioxidante do OE-Cs com resultado de $274,3 \pm 10,0 \mu\text{M ET}$.

A interação de um potencial antioxidante com o DPPH depende, principalmente, da conformação estrutural e do número de hidroxilas disponíveis (REIS, 2016). Este resultado, pode então ser explicado pelos constituintes identificados, uma vez que as substâncias identificadas não apresentam um grande número de hidroxilas e conjugação em sua estrutura, bem como pelo baixo teor detectado de compostos fenólicos.

Os componentes presentes nos OE apresentam diversos efeitos, neste caso, no OE-Cs, o β -Pineno e o γ -terpineno, além de outras ações, apresentam ação antioxidante (BUDAVARI et al., 1996; ROMERO, 2015). No entanto, além de estes constituintes se apresentarem em baixas concentrações, o OE-Cs é pouco solúvel nas condições do experimento realizado e esta metodologia deve ser aplicada principalmente para compostos hidrofílicos (ANDRADE et al., 2012).

CONCLUSÕES

Neste trabalho o OE proveniente do epicarpo de *Citrus sinensis* (L.) Obesck (laranja doce) foi submetido a avaliação química e biológica, com enfoque no seu potencial antioxidante.

O perfil cromatográfico do óleo essencial OE-Cs revelou como compostos majoritários os β -Citroneleno, Santeno, trans-Pineno (monoterpenos hidrogenados); Car-3-em-2-one, Eugenol, Limoneno-10-ol (monoterpenos oxigenados); α -Humuleno, α -neo-Cloveno e β -Acoradieno (sesquiterpenos hidrogenados); tendo o Limoneno como o constituinte dominante no OE-Cs.

No método de análise antioxidante a amostra de OE-Cs, apresentou pelo método de sequestro de radicais livres DPPH mostrou-se mais eficaz ($274,3 \pm 10,0 \mu\text{M ET}$).

Este presente estudo mostra que os resultados de OE-Cs (laranja doce) possuem compostos ativos com propriedades antioxidantes que podem ser bastante propícios, sendo alvo para novas pesquisas nas indústrias farmacêuticas em busca novos medicamentos que possam ajudar na diminuição dos radicais livres, pois atuam contra o envelhecimento celular, além de ser uma excelente fonte alimentícia, de grande importância por seu valor nutricional.

AGRADECIMENTOS



Meus agradecimentos a Universidade Federal do Amazonas que se tornou minha segunda casa desde o de minha graduação, pela concessão da bolsa em que me possibilitou minha permanência neste estudo, ao Instituto de Ciências Exatas onde o estudo foi desenvolvido nos seus laboratórios de pesquisas. A Fapeam através dos editais **N. 001/2021 – FAPEAM Mulheres na ciência** e **N. 010/2021 – CT&I Áreas Prioritárias**.

A minha orientadora Dominique Fernandes de Moura do Carmo por me orientar e ter depositado em mim a confiança neste estudo, ter visto em mim o potencial acadêmico, me dando todo suporte em todas as etapas em que precisei ao longo desse um ano de estudo.

Quero agradecer aos amigos e familiares que me apoiaram nessa jornada de conhecimento, me incentivando, me apoiando para que continuasse firme e forte na condução deste trabalho.

Por fim, meu muito obrigado a todos que participaram de forma indireta para que eu pudesse chegar até aqui e ter conquistado essa vitória tão significativa em minha vida.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. – 4. Ed. — Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 804 p., 2007.

ALVES, C. Q., DAVID, J. M., DAVID, J. P., BAHIA, M. V., AGUIAR, R. M., & SOBRINHO, J. M. **Métodos para determinação da atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos**. *Química Nova*, 33(10), 2202-2210, <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>, 2010.

ANDRADE, M. A. et al. **Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Ciannamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidantes e antibacteriana**. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

ARAÚJO JUNIOR, C. P. DE. **Composição química e Ação Repelente do óleo essencial da laranja lima (*Citrus aurantium* L.) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* koch**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009.

ARAUJO, E. I. M.; MONTEIRO, L. C. C. F.; OLIVEIRA, A. M. S.; ALVES, L. A.; BERTINI, L. M. **Caracterização da atividade antioxidante, teor de fenóis totais e atividade larvívica frente ao *Aedes aegypti* de *Citrus sinensis* L. (laranja)**. *Anais do 5º Encontro Regional de Química & 4º Encontro Nacional de Química*, [S.L.], p. 276-282, nov. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/chenpro-5erq-org3> 2015.

ARAÚJO, J. S. F.; FEITOZA, J. V. F.; QUEIROGA, I. M. B. N.; DANTAS, C. O.; CAVALCANTI, M. T. **Características dos óleos essenciais de *Citrus*: um potencial subproduto agroindustrial**. In: *I Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido, Campina Grande*. Anais [...]. Campina Grande, 2016. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conidis/trabalhos/TRABALHO_EV064_MD1_S_A1_ID1556_21102016151343.pdf. Acesso em: 07.02.2022, 2016.

ASSUNÇÃO, G. V. **Caracterização química e avaliação da atividade larvívica frente a *Aedes aegypti* do óleo essencial da espécie *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce)**. 93f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química, São Luís, 2013.

BORSATO, A. V. et al. **Yield and chemical composition of essential oil of the chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Raeuchert] extracted for steam distillation**. *Semina. Ciências agrárias*, v. 29, n. 1, p. 129-136, 2008.

BUCHLI, L. **Radicais livres e antioxidantes**. *Cosmetics & Toiletries*, 14(2): 54- 57, 2002.

BUDAVARI, S.; O'NEIL, M. J.; SMITH, A.; HECHELMAN, P. E.; KINNEARY, J. F. **The Merck index: an encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals**. 12 ed. Whitehouse Station: Merck, 1741 p. 1996.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. **Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30 (1):15-19, 2010.

FERRONATTO, A. N. & ROSSI, R. C. **Extração e aplicação do óleo essencial da casca da laranja como um ingrediente natural**. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, v.12, n.2, p.78-93, <http://dx.doi.org/10.4013/ete.2018.122.05>, 2018.

GOMES, M. S. **Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero *Citrus***. 98f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, 2011.

GOMES, P. R. B.; LEITE JÚNIOR, J. de D. da C. ; SOUSA, D. ANDRADE DE; EVERTON, G. O; REIS, J. B.; LOUZEIRO, H. C.; FONTENELE, M. A.; PAULA, M. do L. DE; FREITAS, A. DE C.; HUNALDO, V. K. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. **Estudo da composição química, toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, [S. l.], v. 49, n. 1, DOI: 10.15446/rcciquifa.v49n1.87004. Disponível em: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcciquifa/article/view/87004>. Acesso em: 3 feb. 2022, 2020.

GOUNARIS, Y. **Biotechnology for the production of essential oils, flavours and volatile isolates**. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, n. 5, p. 367-386, 2010.



JAYAPRAKASHA, G. K.; GIRENNAVAR, B.; PATIL, B. S. **Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence.** *LWT*, v. 41, p. 376-84, 2008.

LEÃO, M. **Análise do óleo essencial da laranja doce *Citrus sinensis* (L.) Osbeck obtido das cascas secas e frescas através do método de extração por hidrodestilação.** Trabalho de Conclusão de Curso. *Universidade de Santa Cruz do Sul*. 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11624/1015>. Acesso em: 21/01/2022

MARTINS, G. DOS S. O. **Caracterização química e atividade inseticida de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (cockerell, 1893) (hemiptera: pseudococcidae) / Gisele dos Santos Oliveira Martins.** – 2016.

MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JUNIOR, J. **CITROS: principais informações e recomendações de cultivo.** Boletim Técnico 200 (IAC). *Instituto Agrônomo*, 2005.

MOLYNEUX, P. **The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.** *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, v. 50, n. 2, 2004.

NJOROGE, S. M. et al. **Essential oil constituents of three varieties of Kenyan sweet oranges (*Citrus sinensis*).** *Flavour and Fragrance Journal*, v. 20, p. 80-85, 2005.

RE, R. et al. **Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

REIS, E. C. **Avaliação da atividade antioxidante dos extratos etanólicos dos frutos de *Eugenia moraviana* e *Eugenia blastantha*.** Trabalho de conclusão de curso- *Universidade Tecnológica Federal do Paraná*, Londrina, 2016.

ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B.; OLIVEIRA, A. L.; OLIVEIRA, R. R.; VIDA, J. B. **Efeito do óleo essencial de *Thymus vulgaris* no crescimento micelial e na germinação de esporos de *Corynespora cassiicola*.** Disponível em: < http://www.grupointegrado.br/concepar2011/?action=anais_resumo&id=641>. Acesso em: 20 de janeiro de 2022.

SANTOS, F. R. DOS. **Caracterização físico-química de frutos e determinação de óleos essenciais da casca de trinta variedades de laranjas doces.** Tese (Doutorado) - *Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia*, Goiânia, 2020.

SANTOS, H. S.; CRUZ, W. M. S. **A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico oncológico.** *Rev. Bras. Cancerol*, 47(3):303-8, 2001.

SIES, H. **Strategies of antioxidant defence.** Review. *European Journal of Biochemistry*, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SINGH, P. et al. **Chemical profile, antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene.** *Food and Chemical Toxicology*, 48(6):1734-1740, 2010.

SINHORINI, J. L. **O que são radicais livres?.** Centro de Práticas Esportivas da Universidade de São Paulo. 2013. Disponível em: <https://cepe.usp.br/tips/o-que-sao-radicaais-livres/>. Acesso em: 17/01/2022.

SIQUEIRA, M. F. F.; SIEBENEICHLER, T. J.; OLIVEIRA, R. P.; CRUXEN, C. E. S.; SILVA1, W. P.; FIORENTINI, A. M. **Extração e composição do óleo essencial de cascas de citrus de diferentes estádios de maturação.** 7º **Simpósio de segurança alimentar**. 2020.

VASCONCELOS, T. B. DE; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINOC, J. B.; MACENA, R. H. M.; BASTOS, V. P. D. **Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?.** *UNOPAR, Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, 16(3):213-9, 2014.

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J., AVILA-SOSA, R., PALOU, E., & LÓPEZ-MALO, A. **Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact.** *Food Control*, v.31, p.1-4, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.029>

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y.G. **Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components.** *Food Chemistry*, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, jun. 2008.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. **Perfil químico dos óleos essenciais de *Citrus aurantium* Lineu e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck e avaliação psicofarmacológica da ação ansiolítica.** Tese (Doutorado) - *Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas-Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 2014.