

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**NATALY SENNA GERHARDT**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FRUTOS DE GENÓTIPOS DE  
AROEIRA (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) EM DIFERENTES  
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

**VITÓRIA - ES  
2018**

**NATALY SENNA GERHARDT**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FRUTOS DE GENÓTIPOS DE  
AROEIRA (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) EM DIFERENTES  
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Aires Ventura

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster

**VITÓRIA - ES**

**2018**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Humanas e Naturais da  
Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

G368a Gerhardt, Nataly Senna, 1993-  
Avaliação da qualidade dos frutos de genótipos de aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) em diferentes estádios de maturação / Nataly Senna Gerhardt. – 2018.  
105 f. : il.

Orientador: José Aires Ventura.

Coorientador: Ricardo Machado Kuster.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Aroeira-vermelha. 2. Frutas – Qualidade. 3. Frutas – Maturação. 4. Quimiometria. I. Ventura, José Aires, 1954-. II. Kuster, Ricardo Machado. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

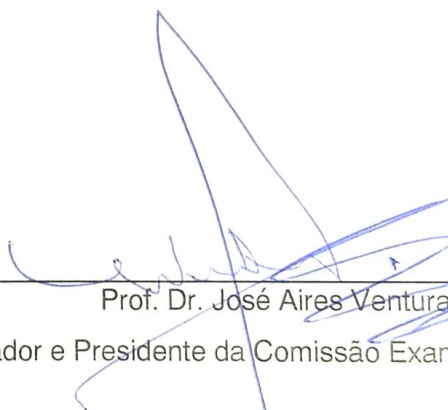
**NATALY SENNA GERHARDT**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FRUTOS DE GENÓTIPOS DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo- UFES, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 16 agosto de 2018.

Comissão Examinadora:



Prof. Dr. José Aires Ventura (UFES)

Orientador e Presidente da Comissão Examinadora



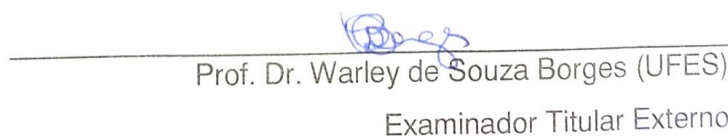
Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster (UFES)

Coorientador



Prof. Dra. Maria do Carmo Pimentel Batitucci (UFES)

Examinadora Titular Interna



Prof. Dr. Warley de Souza Borges (UFES)

Examinador Titular Externo

*Dedicado a Deus, aos meus pais e ao meu irmão Richard, e a todas/os que semeiam esperança, em especial ao meu noivo, Edigar Barraqui.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, que é Pai e Mãe, pela força e inspirações que brotaram no decorrer da pós-graduação. À Irmã Terra, pela energia e sustento com todas as criaturas que vivem interligadas, e a minha querida Nossa Senhora, que providenciou todas as luzes nos momentos que precisei, não deixando perder a esperança.

Aos meu pais, Nádía e Renildo, que me educaram na escola da vida, por todo apoio e dedicação na construção das minhas realizações e por me transmitirem valores que excedem os valores acadêmicos.

Ao meu amado, Edigar Barraqui, pelo companheirismo, incentivo, orações, paciência, e por todo o auxílio no desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus familiares, amigos e amigas, por todo apoio, incentivo e orações.

Aos professores e professoras do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), por todo ensinamento nesse meio tão bonito e misterioso das plantas.

À professora Dr<sup>a</sup>. Selma Hebling, que por meio dos seus ensinamentos gerou em meu ser o encantamento no estudo das plantas, na linha da Fisiologia Vegetal.

Ao meu orientador, professor Dr. José Aires Ventura, por todo apoio durante o mestrado, e pelos conhecimentos adquiridos nesse período tão fecundo; agradeço pelo exemplo de profissional, que atua tanto no meio ambiental e no social.

Ao professor Dr. Ricardo Machado Kuster, que auxiliou na coorientação da pesquisa, pela paciência em me ajudar na compreensão dos processos químicos, e por permitir o uso dos materiais e equipamentos do Laboratório de Cromatografia do LabPetro.

À professora Dr<sup>a</sup>. Luciana Dias Thomaz, por disponibilizar o laboratório para realizar as análises físicas, e por promover o encantamento pela área pedagógica através do acompanhamento na disciplina de Prática de Docência.

Aos companheiros/as do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal por toda parceria nas disciplinas e auxílio com os materiais para a pesquisa, em especial a técnica Débora Aviz Reis.

Aos colegas do laboratório da pós-graduação em Química: Betina Pires, Samantha Ribeiro, Cristina Luz Tosta, Kézia Roncati, Bruno Gomes e Rodrigo Borges, pelo companheirismo nos processos e compreensão das análises.

Aos professores membros da banca, Dr<sup>a</sup>. Maria do Carmo Pimentel Batitucci e Dr. Warley de Souza Borges, que aceitaram corrigir este trabalho e por todas as essenciais contribuições.

Ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), por disponibilizar os genótipos e pela possibilidade de transmitir a pesquisa para os pequenos produtores rurais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Espírito Santo, onde tive a oportunidade de estudar e pesquisar, ainda que num período tão difícil, marcado por tantos cortes de gastos, principalmente na área da Ciência. Agradeço a todas/os que me inspiram com a resistência, lutas, pesquisas e que sonham sem Temer!

*“Vivendo, se aprende; mas o que se aprende mais, é só a fazer outras maiores perguntas.”*

(Guimarães Rosa, Grande Sertão: Veredas)



## RESUMO

*Schinus terebinthifolia* (aroeira) é uma espécie que tem atraído o interesse dos produtores rurais devido os frutos serem utilizados como condimento alimentar, sendo interesse para a indústria alimentícia, e pela potencialidade das atividades biológicas do óleo essencial. Esta demanda do mercado exige qualidade dos frutos, relacionando as suas características físicas e químicas. No presente estudo avaliou-se a qualidade dos frutos de diferentes genótipos de aroeira em diferentes estádios de maturação, com o objetivo de determinar o melhor estágio para colheita e atender o mercado. Os frutos do genótipo BAAr 05, foram analisados nos cinco estádios de maturação: fruto verde (1); fruto verde-rosado (2); fruto rosado (3); fruto vermelho “maduro” (4); fruto vermelho intenso “passado” (5), analisando as características físicas (peso, tamanho), e químicas (componentes químicos do óleo essencial e seu rendimento), desenvolvendo uma nova metodologia para a análise com *headspace*. Os genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23, foram avaliados no quinto estágio de maturação e identificados de acordo com quimiotipos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Os resultados adquiridos foram submetidos à quimiometria para realizar a análise multivariada dos dados, com o uso da análise dos componentes principais (PCA). Os estádios de maturação do genótipo BAAr 05 apresentaram o agrupamento entre estádios uniformes e separação entre os estádios intermediários, demonstrando a característica de transição dos frutos do estágio 2 e 3. Para determinar o rendimento de óleo, foi utilizado o aparato de Clevenger, sendo maior no quarto estágio de maturação (3,76%), sugerindo este como o melhor ponto de colheita. A análise PCA gerou agrupamento dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23, demonstrando que apresentam quimiotipos diferenciados. Evidenciou-se que o uso do equipamento *headspace* destaca-se em análises quimiométricas dos componentes principais analisando também os quimiotipos dos genótipos.

**Palavras-chave:** *headspace* • maturação • *Schinus terebinthifolia* • qualidade • quimiometria • quimiotipo •

## ABSTRACT

*Schinus terebinthifolia* (aroeira) is a species that has attracted the interest of many farmers because the fruits are used as condiment, being of interest to the food industry, and for the potential benefits of its essential oil. This high popularity demands fruit quality, in both its physical and chemical characteristics. In the present study, the quality of the fruits of various genotypes of aroeira in different stages of maturation was evaluated, with the aim of determining the best period for the harvest to meet the market demand. The fruits of the genotype BAAr 05, were analyzed in the five maturation stages: green fruit (1); green-pink fruit (2); pink fruit (3); "ripe" red fruit (4); intense red fruit "past-ripe" (5), analyzing the physical characteristics (weight, size), and chemical characteristics (chemical components of the essential oil and its yield), and developing a new methodology for *headspace* analysis. The genotypes BAAr 05, BAAr 08-C and BAAr 23, were evaluated in the fifth maturation stage and identified according to chemo-types. The experimental design was completely randomized, with three replications. The results were submitted to chemometrics to perform the multivariable analysis of the data, using the principal components analysis (PCA). The maturation stages of the BAAr 05 genotype showed the grouping between uniform stages and separation between the intermediate stages, showing the transition characteristic of the fruits in stages 2 and 3. The Clevenger apparatus was used to determine the oil yield, which reaches its peak in the fourth stage of maturation(3,76%). This suggests that the fourth stage is the best harvesting time. The PCA analysis showed grouping between the repetitions of the genotypes BAAr 05, BAAr 08-C and BAAr 23, demonstrating that the genotypes have differentiated chemotypes. It became clear that the *headspace* technique excels in chemometric analysis of the main components also analyzing the genotype chemotypes.

**Keywords:** headspace • maturation • *Schinus terebinthifolia* • quality • chemometrics • chemotype •

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> – Características da planta <i>S. terebinthifolia</i> . Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde, Jucuruaba - Viana/ES. (A) Árvore <i>S. terebinthifolia</i> . (B) Flores de <i>S. terebinthifolia</i> . (C) Fruto de <i>S. terebinthifolia</i> .....	20
<b>Figura 02</b> - Ramo de <i>S. terebinthifolia</i> com os frutos em diversos estádios de maturação.....	22
<b>Figura 03</b> - Colheita de frutos de <i>S. terebinthifolia</i> com o uso da mesa.....	24
<b>Figura 04</b> -Escala de maturação dos frutos de <i>S. terebinthifolia</i> . Fruto verde (1); Fruto verde rosado (2); Fruto rosado (3); Fruto vermelho-maduro (4); Fruto vermelho intenso (5).....	43
<b>Figura 05</b> - Amostrador automático <i>headspace</i> acoplado ao GC-MS.....	44
<b>Figura 06</b> - Picos desalinhados, antes do processo (A), e sobrepostos, após o procedimento (B).....	49
<b>Figura 07</b> - Cromatograma dos frutos do genótipo BAAr 05 (Estádio 01) .....	50
<b>Figura 08</b> - Rendimento do óleo essencial dos frutos de <i>S. terebinthifolia</i> em diferentes estádios de maturação.....	54
<b>Figura 09</b> - Variação de limoneno entre os estádios de maturação.....	57
<b>Figura 10</b> -Principais componentes dos estádios de maturação.....	57
<b>Figura 11</b> - Variância dos cinco estádios de maturação do genótipo BAAr 05.....	61
<b>Figura 12</b> - Representação gráfica de <i>scores</i> dos estádios de maturação do genótipo BAAr 05.....	62
<b>Figura 13</b> -Caracterização climática do Espírito Santo no período de abril/2017 (A) e maio/2017 (B).....	64
<b>Figura 14</b> - Praga dos frutos de aroeira, <i>Megastigmus transvaalensis</i> (A). Perfuração nos frutos causada pela larva da praga (B).....	66
<b>Figura 15</b> -Incidência absoluta de frutos de aroeira com perfuração provocada por <i>Megastigmus sp.</i> .....	66
<b>Figura 16</b> -Incidência cumulativa de frutos de aroeira com perfuração provocada por <i>Megastigmus sp.</i> .....	67
<b>Figura 17</b> -Picos desalinhados, antes do processo (A), e sobrepostos, após o procedimento (B).....	80

<b>Figura 18-</b> Variância dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23; no quinto estágio de maturação.....	81
<b>Figura 19</b> - Componentes do óleo essencial do genótipo BAAr 05.....	82
<b>Figura 20</b> - Componentes do óleo essencial do genótipo BAAr 08-C.....	83
<b>Figura 21</b> - Componentes do óleo essencial do genótipo BAAr 23.....	84
<b>Figura 22</b> - Representação gráfica de scores de três genótipos.....	86

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> - Compostos voláteis dos frutos do genótipo BAAr 05 em frutos verdes (estádio de maturação01).....	51
<b>Tabela 02</b> - Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr 05 de <i>S. terebinthifolia</i> .....	59
<b>Tabela 03</b> - Caracterização física dos frutos de <i>S. terebinthifolia</i> em diferentes estádios de maturação .....	63
<b>Tabela 03</b> - Análise do teor de água dos frutos de <i>S. terebinthifolia</i> .....	64
<b>Tabela 05</b> -Genótipo BAAr 05, no quinto estágio de maturação.....	82
<b>Tabela 06</b> -Genótipo BAAr 08-C, no quinto estágio de maturação.....	83
<b>Tabela 07</b> -Genótipo BAAr 23, no quinto estágio de maturação.....	84

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**A%** - Área relativa

**ANOVA** - Análise de variância

**BAAr** - Banco Ativo de Aroeira

**CP** - Componente Principal

**EST** - Estádio

**GC**- Cromatografia gasosa

**HS** - *Headspace*

**INCAPER** - Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural

**IS** - Índice de similaridade

**MS** - Espectrometria de Massa, do inglês *Mass Spectrometry*

**NIST** - *National Institute of Standard and Technology*

**PCA** - Análise dos componentes principais, do inglês *Principal Components Analysis*

**REP** - Repetição

**TR** - Tempo de retenção

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>18</b>
2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE <i>S. terebinthifolia</i> .....	18
2.2 COLHEITA.....	22
2.3.1 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DA AROEIRA.....	24
2.4 ATIVIDADE MEDICINAL DA AROEIRA.....	25
2.5 TÉCNICA <i>HEADSPACE</i> PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL.....	30
2.6 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS(PCA) APLICADA A QUIMIOMETRIA.....	32
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
<b>4. CAPÍTULO 1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FRUTOS DE <i>S. terebinthifolia</i> EM CINCO ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....</b>	<b>35</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	36
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.2.1 Material vegetal.....	42
4.2.2 Método de preparação da amostra.....	43
4.2.3 Preparo das amostras.....	44
4.2.4 Parâmetros do <i>headspace</i> .....	44
4.2.5 Identificação dos genótipos e estádios de maturação.....	45
4.2.6 Análise química dos frutos.....	45
4.2.6.1 Análise do óleo essencial com o <i>headspace</i> .....	45
4.2.6.2 Rendimento do óleo essencial dos frutos.....	45
4.2.7 Análise física dos frutos.....	46
4.2.8 Análise estatística.....	47
4.2.9 Construção de modelos quimiométricos.....	47
4.2.9.1 Pré processamento dos dados e alinhamento dos cromatogramas.....	48

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
<b>4.3.1 Cromatograma das amostras.....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.2 Identificação de compostos voláteis.....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.3 Comparação da técnica headspace com outros métodos analíticos na análise dos frutos de <i>S. terebinthifolia</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>4.3.4 Análise dos componentes químicos dos frutos.....</b>	<b>54</b>
4.3.4.1 Rendimento do óleo essencial dos frutos.....	54
<b>4.3.5 Compostos voláteis de <i>S. terebinthifolia</i>.....</b>	<b>55</b>
4.3.5.1 Análise dos componentes principais (PCA).....	61
<b>4.3.6 Análises físicas dos frutos.....</b>	<b>63</b>
4.4 CONCLUSÃO.....	68
4.5 REFERÊNCIAS.....	69
<b>5 CAPÍTULO 2 ANÁLISE DOS QUIMIOTIPOS DOS DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>S. terebinthifolia</i>.....</b>	<b>74</b>
5.1 INTRODUÇÃO.....	75
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
<b>5.2.1 Material vegetal.....</b>	<b>77</b>
<b>5.2.2 Análise química dos frutos.....</b>	<b>78</b>
5.2.2.1 Análise do óleo essencial.....	78
5.2.2.2 Identificação dos compostos voláteis.....	78
<b>5.2.4 Métodos de análise multivariada: PCA.....</b>	<b>78</b>
5.2.4.1 Construção de modelos quimiométricos.....	79
5.2.4.2 Pré-processamento dos dados.....	79
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
<b>5.3.1 Análise de variância dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23.....</b>	<b>81</b>
<b>5.3.2 Identificação dos componentes principais.....</b>	<b>81</b>
<b>5.3.3 Agrupamento dos componentes principais.....</b>	<b>85</b>
6.4 CONCLUSÃO.....	87
6.5 REFERÊNCIAS.....	88
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	90
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>91</b>



<b>8 APÊNDICES.....</b>	<b>99</b>
<b>APÊNDICE - A</b> Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr 05 de <i>S. terebinthifolia</i> .....	<b>99</b>
<b>APÊNDICE - B</b> Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr08-C de <i>S. terebinthifoliano</i> quinto estágio de maturação.....	<b>103</b>
<b>APÊNDICE - C</b> Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr23 de <i>S. terebinthifoliano</i> quinto estágio de maturação.....	<b>104</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Schinus terebinthifolia* Raddi (Sinomínia: *Schinus terebinthifolius*) é uma espécie originária da América do Sul, concentrada principalmente no Brasil, Paraguai e Argentina. Pertencente à família Anacardiaceae, esta planta possui folhas perenes e frutos de característica drupa, os quais, apresentam coloração verde no início e vermelha nos estádios posteriores (LORENZI, 2002).

O Estado do Espírito Santo tem se destacado no cenário internacional de produção e exportação de *S. terebinthifolia*. Desde 2012, o município de São Mateus tem liderado a produção e exportação desses frutos em âmbito mundial (INCAPER, 2016).

Os frutos, folhas e casca do caule, possuem propriedades medicinais com atividade antibacterianas, antifúngicas (OLIVEIRA, 2012). Além disso, a espécie *S. terebinthifolia* apresenta grande relevância no mercado internacional, sendo utilizada como condimento alimentar na culinária europeia (CARVALHO et al., 2003; LENZI; ORTH, 2004a).

Por conta das demandas comerciais, a determinação do ponto de colheita dos frutos é de suma importância, pois assegura uma boa conservação e manutenção de sua qualidade garantindo a preservação do conjunto de propriedades que tornam os frutos apreciados pelo consumidor. No entanto, durante a maturação dos frutos, ocorrem mudanças relacionadas a cor, sabor e componentes químicos (VIEITES, 2010).

Os índices de maturação dos estádios do fruto são baseados em características físicas e químicas, que se modificam no decorrer do tempo (DAMATTO JUNIOR et al., 2010). Dessa forma, a colheita promove a estagnação do desenvolvimento da maioria de seus compostos, definindo suas características nutricionais (GORTNER; DULL; KRAUSS, 1967). Assim, a determinação do ponto de colheita, está relacionado com o melhor estágio de maturação, e possui o intuito de atender às demandas do mercado farmacêutico e alimentício, que está relacionada com a composição química e

rendimento do óleo essencial, produto de grande valor agregado para o mercado nacional e internacional.

A composição em monoterpenos e sesquiterpenos, principais constituintes do óleo essencial de *S. terebinthifolia*, assim como a concentração deles, podem variar de acordo com fatores ambientais, disponibilidade hídrica e o tipo de solo onde a planta é cultivada. O método de cultivo, processo de extração e época de colheita (estádio de maturação) também podem influir na composição e concentração desses constituintes químicos nos frutos (DUARTE et al., 2006).

Tendo em vista que a qualidade dos frutos, ao serem retirados da planta, varia de acordo com o genótipo e com o estágio de amadurecimento, o objetivo da presente pesquisa foi determinar a qualidade do metaboloma volátil de frutos de *S. terebinthifolia* colhidos em diferentes estágios de amadurecimento.

Assim, ao considerar a hipótese do quarto estágio de maturação (fruto vermelho “maduro”) como o tradicionalmente colhido pelos produtores de aroeira, na perspectiva do acúmulo de metabólitos secundários de acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), a presente pesquisa busca contribuir com as análises físicas e bioquímicas dos frutos de *S. terebinthifolia*, de forma a atender os melhores padrões para a indústria farmacêutica, estabelecendo os parâmetros de produção da qualidade certificada para produtores rurais.

A análise dos quimiotipos é uma alternativa na seleção de genótipos com maior potencial industrial, visto que proporciona a diferenciação das espécies de um gênero e a identificação dos compostos de interesse comercial (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009). Neste trabalho optou-se pela utilização da análise multivariada de dados utilizando o PCA (*Principal Component Analysis*), que realiza a função de agrupar as principais informações das amostras.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *S. terebinthifolia*

A espécie *Schinus terebinthifolia* pertence ao Reino Plantae; Subreino Tracheobionta; Subdivisão Spermatophyta; Divisão Magnoliophyta; Classe Magnoliopsida; Subclasse Rosidae; Ordem Sapindales; Família Anacardiaceae; (USDA, 2017).

A família Anacardiaceae é formada por mais de 600 espécies, distribuídas em mais de 70 gêneros e podendo ser encontradas em diversos ambientes: secos e úmidos; regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Dentro da família Anacardiaceae podem ser citados espécies como: *Mangifera indica*L. (manga), *Spondias tuberosa*L. (umbu), *Spondias mombin*L. (cajá), *Anacardium occidentale*L.(caju) , que são tradicionalmente comercializados, bem como as sementes de e *Pistacia vera*L. (pistache), espécies do gênero *Rhus* que são utilizadas em bebidas. Além disso, alguns gêneros são ornamentais e usados na medicina natural, como é o caso do gênero *Schinus* (SOUZA; LORENZI, 2012).

O gênero *Schinus* contém cerca de 30 espécies, com distribuição nas regiões tropicais e subtropicais. Entre as espécies nativas do Brasil, com ampla distribuição e fácil adaptação a diversos ambientes edafoclimáticos, destaca-se *S. terebinthifolia*Raddi (JUDD et al., 2009), conhecida popularmente como aroeira(LORENZI, 2002), cujo nome significa “árvore da arara” por conta da preferência da avifauna (MOREIRA, 1985). No Brasil essa espécie também é conhecida como aroeira-mansa, aroeira-vermelha, aroeira-da-praia, aroeira-pimenteira, aroeirinha, pimenta-rosa. Em outros países é conhecida como: “pink-pepper”, “christmas berry”, “brazilian pepper”(Estados Unidos), “poivre rose” (França), “brasilianischer pfeffer” (Alemanha) entre outras sinônimas populares (LORENZI, 2002).

No Brasil a distribuição da espécie ocorre principalmente nos estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do

Norte, São Paulo e Sergipe (CARVALHO, 2003), havendo também ampla distribuição natural nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (NOGUEIRA, 1998). A espécie também pode ser encontrada em outros países como Paraguai, Uruguai e Argentina (SANCHOTENE, 1989). Na Flórida, Sul dos Estados Unidos, foi introduzida em 1898 como planta ornamental, e se tornou uma espécie exótica invasora, considerada atualmente como praga (NEVES et al., 2016).

Na Mata Atlântica ocorre nas florestas estacional decidual, floresta estacional semidecidual, ombrófila densa e ombrófila mista (CARVALHO, 2003). É uma espécie adaptada a diversos ambientes edafoclimáticos, sua morfologia modifica conforme o ambiente, de arbustos a arbóreas. Ademais, apresenta rápido crescimento, com capacidade de ocupação em áreas degradadas (LORENZI, 2012). Possuindo características morfoanatômicas de plantas de ambientes secos, *S. terebinthifoliae* apresenta camadas múltiplas da epiderme, cutícula espessa, drusas de oxalato de cálcio, grande quantidade de estômatos, e sistema vascular desenvolvido, com abundância de esclerênquima (AZEVEDO et al., 2015; DUARTE; TOLEDO; OLIVEIRA, 2006).

A espécie *S. terebinthifolia* possui grande plasticidade ecológica, explicando assim o fato de suas mudanças morfológicas variarem de acordo com as condições agroecológicas, ampliando suas possibilidades de cultivo em diferentes regiões do Brasil, ocupando diversos ambientes e formações vegetais. A planta sobrevive em ambientes com déficit hídrico moderado, com estações secas de aproximadamente seis meses. Dessa forma, é encontrada em toda faixa litorânea do território brasileiro, em ambientes de dunas, próximo a rios, várzeas, córregos e ambientes pobres em nutrientes, secos e pedregosos (LENZI; ORTH, 2004b). A espécie é pouco exigente quanto ao tipo de solo, entretanto, tende a desenvolver-se melhor em solos drenados, com textura de caráter arenoso e argiloso (DEGÁSPARI, 2004; CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008).



Figura 01 – Características da planta *S. terebinthifolia*, Fazenda Experimental do INCAPER - Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde, em Jucuruaba, Viana/ES. (A) Planta *S. terebinthifolia*. (B) Flores. (C) Frutos maduros.

É uma planta perenifólia, apresenta uma morfologia estrutural variada (com altura diversificando entre 2 a 10 metros), considerada como arbusto ao possuir a altura de 2 a 3 metros (Figura 1a), e arborescentes acima de 4 metros de altura (NEVES et al., 2016).

O tronco, revestido com casca grossa, geralmente possui formas curtas, tortuosas e cilíndricas, de onde se desenvolvem os ramos plagiotrópicos (galhos) primários, que emitem os ramos secundários, com o crescimento horizontal em diferentes ângulos de inclinação. A casca da parte externa do tronco é escura (com estrias longitudinais), grossa, rugosa, sulcada, escamosa e áspera, que se desprende em placas disformes; a casca interna é avermelhada com textura fibrosa e odor com exsudação de terebintina, característico da espécie (NEVES et al., 2016).

As flores, constituídas de pétalas brancas, são inflorescências paniculadas axilares e terminais, melíferas e pentâmeras, actinomorfas, diclinas, com cinco sépalas verdes, cinco pétalas brancas e disco nectarífero amarelo ouro, com dois períodos de floração concentrados de setembro a novembro e de janeiro a março (RUAS, 2016). O pólen é tricolporado, radiosimétrico, isopolar, com ornamentação reticulada, compreendendo aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro no eixo polar (LORENZI, 2002). As flores masculinas possuem dez estames com anteras dorsifixas amarelas e com gineceu reduzido, sem óvulo funcional no interior do ovário. As flores femininas apresentam gineceu com estigma trilobado, quase séssil, ovário súpero, unilocular. Possuem óvulo único e androceu não funcional, com dez estames reduzidos, com suas anteras indeiscentes (NEVES et al., 2016, LENZI; ORTH, 2004b).

Quanto à reprodução, a espécie é descrita como dioica, ou seja, possui separação completa das funções sexuais, com flores (em meio natural) na maioria das vezes estaminadas (masculinas) ou pistiladas (femininas), sendo raramente encontradas com morfologia hermafrodita (TANURDZIC; BANKS, 2004).

As plantas podem apresentar floração e frutificação a partir dos três meses de idade pós-plantio, podendo ser influenciadas pelo aumento da temperatura, disponibilidade de água no solo e comprimento do dia (NEVES et al., 2016). Em Santa Catarina, nas áreas de influência marinha, a floração acontece em dois períodos: outubro a novembro, com menor intensidade e duração de aproximadamente 45 dias; e outro de fevereiro a abril, com maior intensidade e florescimento de todos os indivíduos (LENZI; ORTH, 2004b). Nas regiões de restinga do Norte Fluminense a espécie apresenta estratégia de florescimento do tipo cornucópia (com dois períodos de maior floração na estação chuvosa - verão) e frutificação com maior intensidade no período seco (abril a julho) (CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008). No Espírito Santo, no município de Sooretama, a espécie apresenta dois períodos de floração e frutificação: o primeiro, denominado "safrinha" (menor produção), que ocorre de outubro a janeiro, e o segundo, a produção principal, que ocorre no período de maio a junho, com maior intensidade de frutificação entre a última quinzena de maio e a primeira de junho (NEVES et al., 2016; RUAS, 2016).

Os frutos da espécie são pequenos, com cerca de 3 a 5mm de diâmetro (Figura 1c), do tipo drupas globosas, indeiscente; são lustrosos e levemente achatados na parte do comprimento (NEVES et al., 2016). Reunidos em cachos pendentes, possuem a coloração verde no início e depois tornam-se vermelhas quando maduros. Com exocarpo composto por camadas lignificadas de epiderme e hipoderme, apresentam aspecto brilhante, aromático, e com o sabor adocicado e adstringente em virtude da presença de tanino (JUDD et al., 2009).

Contam com apenas uma semente, lisa, com envoltório membranáceo, que por sua vez apresenta coloração amarelo-clara, com uma mancha marrom escura. O envoltório tem dupla origem, parcialmente paquicalazal, e tegumentar

(NEVES et al., 2016). A dispersão das sementes dos frutos é zoocórica, tendo as aves como principais agentes dispersores (LORENZI,2002).

Uma característica peculiar da família Anacardiaceae, a qual a espécie *S. terebinthifolia* pertence, é relacionada ao sistema secretor dos frutos. Nessa família, o fruto apresenta diversas cavidades microscópicas no mesocarpo; essas cavidades são associadas ao floema e constituídas por lume e epitélio secretor multiestratificado, formado por células que variam na morfologia. (MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001).

## 2.2 COLHEITA

A colheita dos frutos da espécie *S. terebinthifolia* apresenta certa dificuldade, uma vez que os estádios de maturação não apresentam uniformidade (Figura 02). No mesmo ramo pode haver frutos verdes e avermelhados (NEVES et al., 2016).



Figura 02 - Ramo de *S. terebinthifolia* com os frutos em diversos estádios de maturação.



Os frutos são os principais produtos dessa espécie. Algumas árvores do Espírito Santo, na região de São Mateus, chegam a produzir aproximadamente 80kg no período da colheita (NEVES et al., 2016). A colheita dos frutos geralmente inclui três atividades em sequência (corte dos galhos; coleta dos frutos maduros e derrixa dos frutos). Na colheita tradicional os galhos mais maduros são cortados, e após esse processo ocorre a catação dos frutos maduros, ou pela derrixa dos galhos, que é realizada deslizando as mãos ao longo dos ramos, retirando as folhas, os frutos verdes, semimaduros e maduros. Os frutos são armazenados em caixas de madeira ou em sacos (NEVES et al., 2016).

Um outro processo que vem sendo utilizado no Espírito Santo em pós-colheita é o que utiliza mesa, proporcionando maior eficiência, uma vez que diminui a quantidade dos frutos danificados e melhora a otimização e rapidez da seleção dos frutos, ampliando o rendimento de frutos colhidos (NEVES et al., 2016; RUAS, 2016). A mesa é feita de madeira com tela de poliéster e uma malha; possui as dimensões de 2 metros de comprimento, 1 metro de largura e 1 metro de altura (Figura 03). O processo de uso da mesa é composto por cinco etapas, sendo elas: 1) os ramos mais finos são cortados; 2) os ramos cortados são depositados na mesa; 3) com o auxílio de um ramo batem-se os galhos para separar os frutos; 4) na mesa as folhas permanecem sobre a tela de poliéster e os frutos passam pela malha, ficando depositados no saco estendido no chão; 5) os frutos são coletados pelo produtor rural e posteriormente ensacados e pesados (NEVES et al., 2016).



Figura 03 - Colheita de frutos de *S. terebinthifolia* com o uso da mesa separadora.

Fonte:Neves et al. (2016).

### 2.3IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DA AROEIRA

Nos últimos anos, *S. terebinthifolia* vem ganhando destaque no mercado nacional e internacional (PÉLA, 2014; LENZI; ORTH, 2004). No comércio alimentício os frutos são utilizados como especiaria, principalmente por seu sabor adocicado e moderadamente apimentado (CARVALHO, 2003; INCAPER, 2016). Por conta disso, na cozinha nacional os frutos são conhecidos como pimenta-rosa; e na culinária internacional como “*pink-pepper*” (Estados Unidos), “*poivre rose*” (França) e “*brasilianischer pfeffer*” (Alemanha) (CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008). Ainda, segundo Bertoldi (2006), os frutos são utilizados de forma *gourmet* na culinária sofisticada, sendo utilizada em diversos pratos, no tempero de carne, massas, salame e salmão. Mas também é empregado em bebidas exóticas e chocolates.

Além disso, por conta do seu potencial medicinal, o óleo essencial do fruto também vem ganhando destaque no meio internacional. Entretanto, ainda é necessário o aprimoramento de suas técnicas de extração, de forma a adequar este processo às exigências de pureza do mercado internacional (NICOLINI; PUGET; MAZZA, 2009).

A planta *S. terebinthifolia* é utilizada na indústria farmacêutica, no desenvolvimento de medicamentos a partir dos componentes extraídos do óleo essencial e na indústria de cosméticos na produção de cremes e sabonetes (AMORIM; SANTOS, 2003). No paisagismo de ambientes urbanos é considerada como uma planta ornamental (CARVALHO, 2003); mas também vem sendo utilizada em diversos plantios para a recuperação e reflorestamento de áreas degradadas e em processos de reposição de mata ciliar e estabilização de dunas (SOUZA et al., 2001; BOROS, 2007; SOUZA et al., 2013, RUAS, 2016).

*S. terebinthifolia* também pode ser utilizada no controle de doenças e pragas de produtos agrícolas. Sua atuação antifúngica é uma alternativa ecológica, colaborando para a diminuição do uso de defensivos agrícolas. Esta constatação foi verificada nos estudos de Santos e colaboradores (2010), comprovando que a planta provoca o efeito defensivo contra o fungo *Botrytis* spp, a partir de testes *in vitro*.

### 2.3.1 IMPORTÂNCIA MEDICINAL DA AROEIRA

O uso de plantas medicinais é uma prática que vem sendo propagada ao longo dos tempos. O crescente interesse pelo potencial medicinal de algumas plantas promoveu o desenvolvimento de várias pesquisas científicas na área da etnobotânica <sup>1</sup> (LUCENA, et al., 2006; MARTORELLI, et al., 2011). A Organização Mundial da Saúde (OMS) avalia que cerca de 80% da população utiliza as plantas medicinais como medicamentos, e que 25 mil espécies de plantas sejam usadas na medicina alternativa (LUCENA, et al., 2006; OLIVEIRA-JUNIOR, et al., 2013).

No Brasil, a origem do uso das plantas medicinais surgiu da integração das culturas indígena e africana. Na cultura indígena, esses conhecimentos foram transmitidos por intermédio dos pajés e aprimorados de geração em geração. Quanto aos povos africanos, ao serem trazidos ao Brasil como escravos, no

---

<sup>1</sup> Etnobotânica é um ramo multidisciplinar que associa estudos botânicos com antropologia, relacionando as interações das sociedades humanas com o conhecimento das plantas, englobando conhecimentos farmacológicos, ecológicos e religiosos (MATOS; LORENZI, 2008).

período colonial, portavam plantas oriundas de seu continente, muitas delas utilizadas em rituais religiosos, mas também com potencial farmacológico (LORENZI; MATOS, 2008; SOARES, 2010). Destas contribuições formaram-se os principais alicerces de toda a tradição no uso de plantas medicinais no Brasil (LORENZI; MATOS, 2008).

Entre as diversas plantas medicinais, a espécie *S. terebinthifolia* é amplamente utilizada na medicina popular, e possui um grande destaque no mercado de fitoterápico, pois apresenta princípios ativos para produção de diversos fármacos (MENDES et al., 2015). Seu uso medicinal foi descrito desde a primeira edição da “Pharmacopeia Brasileira”, publicada em 1926 (LUCENA et al., 2006; GONÇALVES et al., 2007; CARVALHO et al., 2013).

Em 1999 foi lançada no Brasil uma preparação farmacêutica em gel contendo extrato de *S. terebinthifolia*, sendo utilizada no tratamento da vaginose bacteriana, demonstrando nas pesquisas de Amorim e Santos (2003), que comprovaram que o gel vaginal, composto da casca do caule, é eficaz no tratamento. O estudo foi realizado com quarenta e oito mulheres portadoras de vaginose bacteriana sintomática, sendo vinte e cinco casos tratados com o uso do gel de *S. terebinthifolia*, e vinte e três com placebo. Os resultados mostraram a taxa de cura em 84% nas pacientes que foram sujeitas ao gel vaginal, e de 47,8% no grupo placebo, demonstrando a eficácia do produto.

Diversos estudos com *S. terebinthifolia* têm mostrado o potencial farmacológico dos óleos essenciais no que se refere às suas atividades biológicas. Cerca de 60% dos óleos essenciais possuem a atividade biológica contra os fungos, e 35% possuem atividade antibacteriana (LIMA et al., 2006).

O óleo essencial de *S. terebinthifolia* apresenta diversas propriedades biológicas, entre elas: a antioxidante (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; BENDAOU et al., 2010; BERNARDES, et al., 2011); antimicrobiana (GUERRA et al., 2000; SILVA et al., 2018); antifúngico (JOHANN et al., 2010); inseticida (KWEKA et al., 2011); cicatrizante (LUCENA et al., 2006; SCHEIBE et al., 2016; FEDEL-MIYASATO et al., 2014; SANTOS, 2006); antitumoral (MATSUO et al., 2011; QUEIRES et al., 2006); anti-

inflamatório (RIBAS et al., 2006; SOARES et al., 2010; CARVALHO; COSTA; CARBELOSSI, 2010; ROSAS et al., 2015); neuroprotetor no tratamento da doença de Parkinson (SERENIKI et al., 2016) e propriedade alelopática (NESSELLO; SERAFINI; PAULETTI, 2007).

Os princípios ativos de *S. terebinthifolia* são encontrados no extrato e óleo essencial das folhas e frutos (PIRES et al., 2004). Os frutos, de modo especial, possuem atividade antimicrobiana sobre bactérias *gram* positivas, além de ação anti-inflamatória. Esse óleo essencial é utilizado através de aplicações tópicas no tratamento de micoses e candidíases, sendo a atividade antifúngica atribuída à alta concentração de monoterpenos (COSTA et al., 2010; LIMA et al., 2006; PIRES et al., 2004).

Segundo Ribas e colaboradores (2006), *S. terebinthifolia* possui efeito positivo no processo de reparo tecidual sobre as lesões ulceradas da mucosa bucal de ratos da espécie *Rattus norvegicus albinus*. Na pesquisa, foram utilizados cinquenta ratos, divididos em dois grupos, sendo vinte e cinco do grupo controle e vinte e cinco do grupo experimental. Os ratos foram submetidos a lesões ulceradas na língua, através de aplicações diárias de hidróxido de sódio. No grupo experimental as lesões foram tratadas com extratos da folha de *S. terebinthifolia*, enquanto o grupo controle não recebeu nenhum tratamento. Ao comparar os dois grupos, os pesquisadores observaram que, no grupo experimental, atuou na aceleração do processo de reparo do tecido epitelial e otimizou o reparo do tecido conjuntivo, reduzindo ligeiramente a intensidade do processo inflamatório.

Pesquisas realizadas por Oliveira Junior e colaboradores (2013) demonstraram o efeito fungitóxico do óleo essencial dos frutos *S. terebinthifolia* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* nas condições *in vitro* e no desenvolvimento da antracnose no período de pós-colheita em mamões. Entretanto, neste caso o óleo não é recomendado por causa da fitotoxidez dos frutos.

Segundo Carvalho e colaboradores (2003), o extrato de aroeira mostrou-se potencialmente mutagênico em bactérias e apresentou propriedades

antioxidantes, devido à presença de flavonoides. A análise fitoquímica revelou a presença (nas folhas, cascas e frutos) de taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, esteróis e terpenos. Verificou-se uma maior concentração de óleos essenciais nos frutos, em torno de 5%; enquanto nas folhas a quantidade ficou por volta de 1%.

Matorrelli (2011) constatou a ação antiinflamatória e cicatrizante da planta, comparando sua eficácia com fármacos de uso clínico, avaliando que a atividade cicatrizante de *S. terebinthifolia* é atribuída aos taninos e flavonoides presentes na casca e entrecasca dos frutos. O estudo fitoquímico demonstrou a presença de diversos componentes: schinol, ácido masticadienoico, sitosterol, triacontanol, simiarenol, ácido terebintifólico, baurenona, saponinas, taninos, óleo essencial e resina.

Segundo Cole (2008), o óleo essencial do fruto de *S. terebinthifolia* apresenta atividades larvicidas, inseticidas e repelente contra o *Aedes aegypti*, agente transmissor da dengue e outras viroses.

Estudos fitoquímicos de Carvalho e colaboradores (2003) e Santos e outros (2006) evidenciaram a presença de diversos compostos químicos (incluindo alcoóis, cetonas, ácidos, monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos) encontrados no caule, folhas e frutos.

De acordo com Souza e colaboradores (2005) o rendimento dos óleos essenciais está relacionado aos constituintes químicos; mas é importante ressaltar que a complexidade do conjunto da composição fitoquímica do óleo essencial não possibilita relacionar a atividade biológica com uma determinada substância. Assim, a ação relacionada a um composto isolado pode não ser a mesma, devido as interações que podem acontecer entre os outros componentes do óleo.

Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário das plantas e atuam em diversas funções ecológicas que auxiliam na atração de polinizadores, na proteção contra predadores e parasitas, entre outras atividades (SIMÕES et al., 2010). A produção e o armazenamento dos óleos essenciais ocorrem em estruturas anatômicas como células oleíferas,

cavidades, canais secretores e pelos glandulares (APPEZZATO; GUERREIRO, 2003). Geralmente, são misturas complexas de substâncias de natureza volátil e possuem a composição lipofílica determinada por fatores genéticos e ambientais, que podem causar variações significativas nos constituintes. Além disso, possuem baixa polaridade, são odoríferos e de aparência oleosa (SIMÕES et al., 2010). São encontrados em todo tecido vivo das plantas, como: do caule, folha, casca, semente, flores e frutos (APPEZZATO; GUERREIRO, 2003). Dependendo do local de onde são extraídos, sua composição difere quanto à qualidade e quantidade (GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Quimicamente, os constituintes dos óleos essenciais das plantas estão diretamente relacionados com duas classes: terpenoides e fenilpropanoides, sendo que, os terpenos são as substâncias mais frequentes. Os principais compostos são derivados de três vias metabólicas: a via do mevalonato; da metil-eritritol; e do ácido chiquímico (SIMÕES, et al., 2010).

Os terpenoides, também chamados de terpenos, ocorrem em todas as plantas e representam a segunda maior classe de constituintes ativos sendo a primeira os alcaloides. São extremamente variáveis, mostrando diferentes esqueletos de carbono e uma grande variedade de derivados oxigenados, incluindo álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, éteres, peróxidos e fenóis (SIMÕES et al., 2010; ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015). De acordo com diversas formas de ciclização, os terpenoides dão origem aos monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, com 10, 15, 20, 30 átomos de carbono, respectivamente (LARCHER, 2005). Dessa forma, todos os terpenos podem ser classificados conforme o número de unidades de isopreno (RAVEN; EICHHORN; EVERT, 2014).

Os monoterpenos (C<sub>10</sub>) são compostos geralmente voláteis, que consistem em duas unidades de isoprenos. De acordo com Bakkali e colaboradores (2008), os monoterpenos constituem cerca de 90% dos óleos essenciais. A composição desses óleos essenciais é complexa, geralmente com diversos tipos de substâncias terpenicas (LARCHER, 2005). Os monoterpenos mais

representativos são: citrionelol; linalol; mentol, mentona;  $\alpha$ - pineno;  $\beta$ -pineno; carvona; 1,8-cineol; limoneno (BAKKALI et al., 2008).

Os sesquiterpenos ( $C_{15}$ ) possuem uma grande variedade de compostos; isso se justifica devido à diversas ciclizações, em função do aumento do número de carbonos. Quanto a função e o esqueleto, os sesquiterpenos são similares aos monoterpenos (BAKKALI et al., 2008).

A biossíntese dos terpenoides ocorre através da condensação de unidades pentacarbonadas: o difosfato de isopentenila (IPP) e seu isômero, difosfato de dimetilalila (DMAPP). O IPP pode ser sintetizado por duas rotas biossintéticas: a) a rota do mevalonato (MVA), responsável pela formação dos sesquiterpenos e triterpenos, que ocorre preferencialmente no citosol, tendo o piruvato e acetilcoenzima A como precursores desse processo; b) na rota do metileritritol fosfato (MEP), onde são formados os monoterpenos, diterpenos e tetraterpenos, ocorrendo nos plastídeos e tendo como precursores o piruvato e gliceraldeído-3-fosfato (DEWICK, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A partir da biossíntese, os terpenos são diferenciados por meio de reações enzimáticas, entre elas as reações de isomerização e oxidação, que por sua vez formam os óleos essenciais (como, por exemplo: terebentinas e resinas) (DEWICK, 2002).

As substâncias dos óleos essenciais são caracterizadas através de técnicas cromatográficas. Esses métodos realizam procedimentos de separação e isolamento de forma mais abrangente. Entre as técnicas, a cromatografia gasosa (CG) possui o objetivo de separar os componentes das misturas dos compostos voláteis. Para aplicações analíticas é necessário o acoplamento com o sistema de espectrometria de massas (CG-EM) (SIMÕES et al., 2010; BASER; BUCHBAUER, 2010).

## 2.5 TÉCNICA DO *HEADSPACE* PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

A análise por *headspace* está relacionada com a pré-concentração da fase de vapor liberada a partir de amostras sólidas ou líquidas, e tem sido aplicada a



muitas matrizes e compostos voláteis, como o óleo essencial. Esse método não é destrutivo e exige o mínimo de preparação da amostra, e não requer instrumentos de difícil manipulação. Além disso, essa técnica evita o uso de solventes, permitindo isolar os componentes voláteis na forma natural (MENÉNDEZ et al., 2000).

Para realizar as análises, a amostra é depositada em um frasco hermeticamente fechado; este é aquecido a uma temperatura constante, dessa forma, os compostos voláteis evaporam da amostra moderadamente, e permanecem em uma fase a vapor acima dela. Após um período ocorre o equilíbrio no sistema e os compostos voláteis são analisados através de outras técnicas, como a cromatografia gasosa. Dessa forma, ao analisar uma alíquota da fase vapor é possível constatar os compostos voláteis sem a ingerência dos compostos não voláteis (GROBEIRO, 2012). A análise por meio do *headspace* realiza o estudo do espaço livre acima da amostra, sendo possível determinar a composição do vapor em equilíbrio com a matriz de interesse (BASTOS et al., 2002).

Essa técnica pode ser utilizada de duas formas: estática ou dinâmica. Na modalidade estática, a matriz entra em equilíbrio com o vapor no espaço livre do recipiente fechado, e a concentração dos analitos não se alteram com o tempo (NAVARRO et al., 2000). Quanto ao modo dinâmico, o equilíbrio e a composição do meio gasoso são modificados constantemente, através de um gás inerte que remove os compostos voláteis da matriz, no período da extração (FRANCO; JANZANTTI, 2004).

A técnica dinâmica do *headspace* possui diversas vantagens relacionadas ao tratamento das amostras, pois apresenta: baixo custo, reduz a degradação da amostra, realiza análises quantitativas e qualitativas, sendo uma técnica rápida e de precisão (KAFKAS et al., 2005). Com o auxílio da quimiometria, os dados robustos do *headspace* recebem o tratamento estatísticos por análise multivariada de dados (COX et al., 2015).

## 2.6 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) APLICADA À QUIMIOMETRIA

A Análise dos componentes principais (PCA) é uma ferramenta estatística que tem sido usada na quimiometria quando os dados apresentam grande número de variáveis, sendo difícil a identificação das principais informações da amostra (LOPES et al., 2010). Assim, essa análise possui a finalidade de reduzir o tamanho da matriz do conjunto de dados, onde há grande número de variáveis que estão inter-relacionadas. Em outras palavras, essa técnica visa verificar se na amostra existe um número reduzido de componentes principais que esclareça a variação total do conjunto de dados (FERREIRA, 2015).

Dessa forma, a PCA inicia-se a partir da organização de dados da matriz “X” que possui o conjunto original das variáveis, onde as linhas são as amostras e as colunas as variáveis. A matriz “X” é fragmentada em N produtos de duas matrizes menores, denominadas *scores* (T) e *loadings* (P), somadas a uma matriz de resíduos (E), formando assim a equação (FERREIRA, 2015):

$$X = T \cdot P^T + E \quad (1)$$

Onde: X – matriz, de dimensão n x m (n: amostras; m: variáveis);

T – Valores de *scores*, que representam as coordenadas das observações no novo sistema de coordenadas (informações sobre as amostras);

P – Valores de pesos (do inglês: *loadings*) representam a contribuição de cada variável antiga; são determinados pelo cosseno do ângulo entre o eixo do componente principal e o eixo original (informações das variáveis);

E – Matriz de resíduos ou ruído, que está relacionada com todos os dados que permanecem sem informação.

Com a fragmentação é possível promover uma truncagem na sequência dos componentes principais, mantendo apenas um conjunto de números substancialmente menor de variáveis não correlacionadas que contém

informações do conjunto original (informação total); esse conjunto são os Componentes Principais (PC, do inglês *Principal Components*), que proporcionam uma melhor visualização dos dados (BRERETON, 2003; FERREIRA, 2015).

Destarte, essa técnica é aplicada em diversas áreas da Química, sendo eficiente no reconhecimento de padrões e na classificação das amostras para as diferentes técnicas analíticas usadas na aquisição de informações, contribuindo na análise exploratória de dados, utilizando gráficos de PCA (MILDENR-SZKUDLARZ; JELEN, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade dos frutos de genótipos de *S. terebinthifolia* em diferentes estádios de maturação, por meio da determinação das características físico-químicas, para estabelecer o melhor estágio de colheita para o mercado e determinar a variabilidade dos genótipos de aroeira.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração de óleo essencial por meio do equipamento *headspace*;
- Estabelecer o perfil fitoquímico volátil por HS-GC-MS dos frutos de *S. terebinthifolia* nos diferentes estádios de maturação do genótipo BAAr 05;
- Determinar, o estágio de colheita ideal, obtendo as melhores características químicas ao avaliar os atributos de qualidade;
- Efetuar análises por *HS-GC-MS* dos frutos de *S. terebinthifolia*, dos genótipos BAAr 05, BAAr 23 e BAAr 08-C, no estágio de maturação: fruto vermelho-intenso;
- Identificar, através dos quimiotipos, a variabilidade dos genótipos de *S. terebinthifolia*;
- Realizar análises físico-químicas dos frutos de *S. terebinthifolia* do genótipo BAAr 05, nos diferentes estádios de maturação.

#### 4 CAPÍTULO 1.

### AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FRUTOS DE *S. terebinthifolia* EM CINCO ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

#### RESUMO

O *headspace* é um equipamento de grande potencial nas análises de compostos voláteis, principalmente ao se tratar de identificação dos componentes do óleo essencial. Este trabalho procurou desenvolver uma metodologia analítica para identificação de moléculas voláteis dos genótipos e dos estádios de maturação dos frutos de *Schinus terebinthifolia*. O método analítico foi utilizado nos frutos do genótipo BAAr 05 em diferentes estádios de maturação. Tendo em vista as pesquisas realizadas para este trabalho, é a primeira vez em que a técnica de *headspace* é utilizada para estudar os componentes do óleo essencial dos frutos da espécie. Através disso, foi possível determinar as diferenças entre as amostras, por meio de ferramentas estatísticas. Para o refinamento dos dados foi necessário o uso do programa “Matlab”, a fim de realizar a análise dos componentes principais. Os resultados das análises apresentaram proximidade com a filogenia dos genótipos e com a ficha de maturação dos frutos. Os grupos gerados pelas análises foram coerentes quanto a semelhança metabólica entre os genótipos e estádios, sugerindo a possibilidade do uso do equipamento *headspace* como boa ferramenta para a identificação de substâncias voláteis. Nesse sentido, as análises através do *headspace* acoplado ao GC/MS identificaram os componentes químicos: Germacreno-D; limoneno; p-cimeno;  $\alpha$ -felandreno;  $\beta$ -miraceno e  $\delta$ -3-careno. O óleo essencial não apresentou diferenciação dos componentes entre os estádios, entretanto, através da maturação, ocorre o acúmulo de metabolitos secundários, justificando a alteração da área relativa dos componentes e o acúmulo do rendimento do óleo essencial, por conta disso, a pesquisa sugere o estágio 04 como o melhor ponto de colheita. As análises físicas, entre os estádios de maturação dos frutos foram avaliadas através do teste de Tukey, demonstrando que são alteradas no decorrer do processo de maturação, sendo influenciadas por fatores bióticos e abióticos.

**Palavras-chave:** *headspace* • maturação • óleo essencial • quimiometria •

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Desde 2012, o Estado do Espírito Santo é considerado o maior produtor em âmbito mundial de *Schinus terebinthifolia* (INCAPER, 2016). Por conta disso, o Banco de Desenvolvimento do Espírito Santo (BANDES) tem auxiliado os pequenos produtores nos processos de produção dos frutos da espécie, afim de promover a exportação do produto (RUAS, 2016).

Segundo dados do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, INCAPER (2016), a maior parte das indústrias está localizada no Norte do Estado, no município de São Mateus, onde estão situadas as maiores indústrias exportadoras: a Agrorosa (São Mateus) e Millar Importação e Exportação (Boa Esperança). O Brasil exporta para os Estados Unidos e Europa cerca de 300 a 350 toneladas do fruto; todavia, grande quantidade é descartada por não manter os requisitos de alta qualidade, principalmente em relação a falta de uniformidade dos estádios de maturação (NICOLINI; PUGET; MAZZA, 2009). Por conta disso, o INCAPER tem orientado os pequenos produtores sobre boas práticas de manejo para obter maior valor de mercado, visto que os frutos possuem alto valor comercial na área alimentícia (condimento alimentar) e farmacêutica (atividade medicinal do óleo essencial) (JESUS, 2010).

Os frutos de aroeira têm sido utilizados, principalmente pela indústria alimentícia, devido as suas propriedades condimentares. Por conta disso, os frutos são conhecidos no Brasil como pimenta-rosa, e internacionalmente como: *pink-pepper* (Estados Unidos) ou *poivre rose* (França) (NEVES et al., 2016).

Pesquisas recentes demonstraram o potencial farmacológico do óleo essencial obtido da polpa dos frutos, sendo de grande importância para o mercado de cosméticos e na produção de medicamentos, por conta de sua atividade biológica (SALEM et al., 2018).

Os produtores da região Norte do Estado do Espírito Santo, nos municípios de São Mateus e Linhares, têm-se beneficiado economicamente com o cultivo de *S. terebinthifolia* (PÉLA, 2014), principalmente após a regulamentação ocorrida no

ano de 2005 pela resolução da Diretoria Colegiada: RDC número 276, de 22 de setembro, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018). Tal cenário aponta para a relevância do cultivo da espécie como fonte de trabalho e renda para diversos produtores, especialmente os de pequeno porte (ROSSA, 2015).

Assim, para auxiliar o produtor rural e extrativistas na produção da aroeira no Espírito Santo, o Governo do Estado e o Banco de Desenvolvimento do Espírito Santo (BANDES) realizam linhas de financiamento. Há também iniciativas do INCAPER, interagindo com o produtor por meio da assistência técnica (JESUS, 2010).

Entretanto, para o produto brasileiro estar de acordo com as exigências do mercado internacional é preciso aprimorar a técnica de extração do óleo essencial, a fim de atingir o padrão de pureza, para que assim possa alcançar os padrões exigido pelo mercado (NEVES et al., 2016).

Diferentes métodos analíticos são utilizadas para extrair e determinar a composição do óleo essencial, entre eles, destacam-se: a técnica de extração por hidrodestilação, através do aparato de Clevenger (CLEMENTE, 2006; COLE, 2008; SANTOS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; ENNIGROU et al., 2017; SALEM et al., 2018); Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) (CLEMENTE, 2006; COLE, 2008; OLIVEIRA et al., 2014); ESI (Ionização por Electrospray) (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2006).

No entanto, outras técnicas podem ser utilizadas na extração de compostos voláteis. Santos (2010) realizou a extração através do equipamento *headspace* para identificar os constituintes químicos de *Hedychium coronarium* e *Pimenta pseudocaryophyllus*. Pesquisas de Souto (2015) promoveram análises metabômicas de *Peperomia obtusifolia* também utilizando a metodologia relacionada com o *headspace*.

Em vista disso, a técnica *headspace* pode ser uma excelente opção para estudar os componentes do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia*.

Essa técnica foi comparada por diversos pesquisadores para verificar os métodos de extração com solventes e análise do *headspace*, e constataram vantagens no uso do equipamento para o isolamento de substâncias voláteis de frutas (VARMING et al. 2004; KAFKAS et al., 2005).

O *headspace* determina a fase gasosa contiguamente acima da fase sólida ou líquida em um meio fechado. Os estudos dessa técnica visam estabelecer a composição do vapor em equilíbrio com a matriz de interesse. Ainda mais, ao associar a análise *headspace* com a cromatografia gasosa e detecção por Espectrometria de massas (HS-GC-MS), é possível determinar os compostos voláteis (CAMARASU; MADICHIE, WILIAMS, 2006).

A análise *headspace* pode ser executada em duas configurações: estática e dinâmica. O que distingue essas configurações é a relação com a concentração dos analitos que não mudam com o tempo no estático. E, no modo dinâmico, a técnica é conhecida como *purge and trap* (purga e armadilha), apresentando alteração na concentração a todo momento. Isso ocorre, pois, nessa configuração acontece uma coleta contínua dos compostos voláteis, realizada por um sistema a vácuo. No sistema dinâmico, uma armadilha com material adsorvente promove a coleta e a concentração dos compostos voláteis; após esse processo os componentes voláteis são dissolvidos por um solvente orgânico (FRANCO; JANZANTTI, 2004).

Dessa forma, a técnica *headspace* se baseia na extração dos compostos voláteis da fase vapor que se encontra no estado de estabilidade com a matriz. Essa técnica possui a vantagem de não gerar a perda de compostos mais voláteis (XIE; YU; GONG, 2018).

O processo de identificação e o isolamento de metabólitos são técnicas de difícil realização devido à alta volatilização e baixa concentração desses componentes nas amostras, viabiliza uma análise precisa, através de uma técnica sensível com pouca manipulação da amostra (WOLFENDER, 2010).

A busca por métodos analíticos gera a redução ou provoca a eliminação das etapas de preparação das amostras, proporcionando a redução dos custos das



análises e apresentando resultados mais rápidos e com a mesma confiabilidade equiparada aos métodos consolidados

No momento atual as análises através do equipamento *headspace* têm apresentado grande ascensão entre as pesquisas envolvendo óleo essencial, devido a possibilidade de pouca manipulação da amostra, além de ser possível realizar diversas análises em uma única operação (FACUNDO, 2009).

A técnica *headspace* gera grande quantidade de informações, por conta disso, através da análise dos componentes principais (PCA) é possível manejar os dados brutos dos cromatogramas de forma adequada, proporcionando a categorização das amostras em grupos (BAMBA; FUKUSAKI, 2006; FERREIRA, 2015; COX et al., 2015). Assim, a análise gera a identificação quantitativa e qualitativa de todos os metabolitos presentes em um determinado momento (YULIANA et al., 2011).

Em síntese, a técnica *headspace*, demonstra diversas vantagens relacionadas à aquisição dos dados, pois apresenta: baixo custo; reduz a degradação da amostra; realiza análises quantitativas e qualitativas; é uma técnica rápida e de precisão (KAFKAS et al., 2005). Entretanto, devido às diferenças estruturais existentes entre as diversas plantas ou partes delas, a eficiência da extração do óleo essencial por *headspace* passa pelo estudo prévio do pré-processamento das amostras e otimização dos parâmetros, como posto aqui para os frutos de *S. terebinthifolia*.

A *International Standard Organization* (ISO), determina os óleos essenciais (óleos voláteis) como combinações complexas de substâncias voláteis de característica lipofílica e na maioria das vezes são odoríferos e líquidos. Apresentam diversas características; quanto ao sabor, o óleo essencial geralmente é ácido e picante; quanto à coloração, varia de incolor a ligeiramente amarelado; quanto a estabilidade, os óleos não são estáveis, principalmente na presença de luz, calor e umidade (SIMÕES et al., 2010).

A composição química do óleo essencial pode variar podendo ser constituído por hidrocarbonetos terpenicos, aldeídos, cetonas, lactonas, cumarinas. Esses compostos apresentam-se em diversas concentrações (SIMÕES et al., 2010).

Os óleos essenciais exercem diversas funções ecológicas na planta, entre essas funções, realizam a atração de polinizadores, proteção contra predadores e parasitas (SIMÕES et al., 2010). O óleo essencial faz parte do metabolismo secundário das plantas, e são armazenados em estruturas anatômicas, como em células oleíferas, cavidades, pelos glandulares e canais secretores (APPEZZATO; GUERREIRO, 2003). A família da espécie *S. terebinthifolia* (Anacardiaceae) possui uma característica peculiar, os frutos apresentam cavidade secretora com diversas cavidades microscópicas no mesocarpo (MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001).

A atividade biológica do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia*, vem sendo explorada há anos na área de etnobotânica, entrelaçando o conhecimento popular com o conhecimento científico. O uso medicinal é conhecido desde a primeira publicação da Farmacopeia Brasileira, no ano de 1926 (LUCENA et al., 2006).

De acordo com Lorenzi e Matos (2008), o óleo essencial da aroeira apresenta um grande potencial farmacológico, apresentando diversas propriedades no tratamento antimicrobiano, antifúngico, antitumoral, anti-inflamatório, além de também possuir atividade cicatrizante.

Os princípios ativos são encontrados em diversas partes da planta, no caule, folhas, frutos (APEZZATO; GUERREIRO, 2003), sendo os frutos, de modo especial, onde ocorre um alto rendimento em óleo essencial (COLE, 2008).

Entretanto, a espécie possui grande variabilidade genética e fenotípica entre os genótipos (RUAS, 2016), aliada à grande plasticidade ecológica, o que explica as alterações morfológicas de acordo com o ambiente, sendo uma planta adaptada em diferentes regiões (LENZI; ORTH, 2004).

A necessidade de analisar a composição química e o rendimento do óleo essencial dos frutos em diferentes estádios de maturação, busca contribuir na seleção de espécies com maior potencial farmacêutico. A partir da análise metabolômica é possível diferenciar as espécies de acordo com os genótipos e estádios de maturação, visto que a análise proporciona a identificação de compostos do interesse comercial (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009).

Considerando a carência de estudos, os objetivos da pesquisa são: Realizar análises químicas por *HS-GC-MS* para determinar a melhor técnica e composição molecular dos estádios de maturação dos frutos do genótipo BAAR 05; Identificar a composição química dos óleos essenciais dos frutos dos genótipos de *S. terebinthifolia* por *HS-GC-MS*; Realizar análise quimiométrica, a fim de agrupar os estádios de acordo com a composição química; Efetuar análises físicas (peso, teor de água e medição dos eixos longitudinal e central) dos frutos de *S. terebinthifolia* do genótipo BAAR 05 nos estádios de maturação.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Material vegetal

Neste estudo foram utilizados frutos dos genótipos BAAR 05 de *Schinus terebinthifolia*. Exsicatas da espécie encontram-se depositadas no herbário VIES da Universidade Federal do Espírito Santo, com o registro no *Index Herbariorum* (catálogo mundial sob a coordenação do Jardim Botânico de Nova York) devidamente catalogado e registrado sob o número do tombo: 39056.

Os genótipos foram produzidos pelo INCAPER, na Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde, em Jucuruaba, no município de Viana, Espírito Santo, Brasil (LAT: -20°.42'30"83; LON 40°.47'68"33). A coleta foi realizada no período da manhã, no dia 01 de junho de 2017.

As amostras foram embaladas em sacos de polietileno e depositadas em caixa de polímero de estireno. Após a coleta, os frutos foram transportados para o Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análises de Petróleo, localizado no Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo. Para a realização do processo de separação uniforme dos estádios de maturação, os frutos foram colhidos e selecionados segundo a cor da casca e ausência de defeitos.

Os frutos foram selecionados segundo a cor da casca e ausência de defeitos, seguindo o padrão comercial. A evolução do amadurecimento foi realizada através da classificação visual de acordo com a escala descrita por Ruas (2016).

Os frutos do genótipo BAAR 05 foram separados nos seguintes estádios fenológicos: Fruto verde (1) – o fruto encontra-se com a superfície 100% verde; Fruto verde - rosado (2) – ocorre uma pequena variação na cor, do verde para rosado na extremidade distal do fruto, cerca de 10% da superfície apresenta a tonalidade rosada; Fruto rosado (3) – o fruto apresenta característica rosada; Fruto vermelho “maduro” (4) – o fruto se encontra com tonalidade 100% avermelhada; Fruto vermelho intenso “passado” (5) (Figura 04) (RUAS, 2016).



Figura 04 - Escala de maturação dos frutos de *S. terebinthifolia*. Fruto verde (1); Fruto verde rosado (2); Fruto rosado (3); Fruto vermelho-maduro (4); Fruto vermelho intenso “passado” (5).

Fonte: Ruas (2016).

Posteriormente, as amostras foram armazenadas no *ultrafreezer* (-80°C). O material foi conservado para permitir que as análises bioquímicas subsequentes fossem desenvolvidas paulatinamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Para as análises do genótipo BAAr 05, os cinco estádios (1,2,3,4,5) maturação foram analisados.

O delineamento experimental das amostras foi inteiramente casualizado, com três repetições.

#### 4.2.2 Método de preparação da amostra

Para determinar o melhor procedimento para a preparação da amostra visando sua incubação no *headspace*, as amostras dos frutos de *S. terebinthifolia* foram manuseadas de três formas: 0,5g de frutos triturados; 0,5g de frutos triturados com 1,5g de sílica em gel (70- 230 *mesh*); 0,5g de frutos rasurados com tesoura. As amostras foram inseridas em frascos convenientes e incubadas no *headspace* por 1 hora a 60°C, sob agitação. Posteriormente, ao verificar a intensidade dos picos no cromatograma foi selecionado o método 0,5g do fruto triturado com 1,5g de sílica em gel 70-230 *mesh*, padronizando a preparação das amostras de todas as análises posteriores.

### 4.2.3 Preparo das amostras

Amostras dos frutos do genótipo BAAR 05 em diferentes estádios de maturação(1,2,3,4,5), foram preparadas para incubação no *headspace*. 0,5 gramas de frutos foram pesados na balança analítica e, após esse processo, foram triturados com 1,5 gramas de Sílica em gel 70-230 mesh, colocados em frascos de *headspace* de 22ml da *Agilent Technologies*, com septos de silicone e lacres de alumínio, hermeticamente lacrados através do equipamento *Crimper 20mm*. Posteriormente, as amostras foram submetidas à análise através do equipamento *headspace*. Essas amostras foram analisadas em triplicatas.

### 4.2.4 Parâmetros do *headspace*

Foi utilizado um amostrador automático *headspace auto-sampler* (Figura 05), modelo AOC-5000 Plus com a primeira coluna DB5 de 30m e a segunda coluna *Agilent Technologies* de 0,25  $\mu$ m. As condições de operação foram: temperatura do injetor: 270°C; modo de injeção: *splitless*; tempo de amostragem: 1 minuto; gás de arraste: Hélio; temperatura da coluna: Início 40°C com taxa de aquecimento de 10°C até chegar 270°C (permaneceu em 270°C por 5 minutos); tempo de corrida total: 30 minutos.



Figura 05 - Amostrador automático *headspace* acoplado ao GC-MS

#### 4.2.5 Identificação dos genótipos e estádios de maturação

Com a finalidade de realizar a determinação do perfil químico, utilizou-se a técnica de injeção por *headspace* associada à cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas, por mostrar-se uma alternativa rápida. Os diversos cromatogramas obtidos foram transformados em matrizes contendo informações de intensidades variáveis dos picos dos compostos voláteis das diversas amostras. As matrizes foram analisadas pela ferramenta quimiométrica “Análise dos componentes principais (PCA)”, através do programa *Matlab*, para adiscriminaçãodos estádios de maturação e dos diferentes genótipos dos frutos de *S. terebinthifolia*, agrupando-os de acordo com as composições de moléculas voláteis do óleo essencial.

Quanto a composição dos compostos voláteis foi realizada a partir da plataforma *NIST*, a qual compara os espectros de massas de cada substância com àqueles contidos em sua biblioteca.

#### 4.2.6 Análise química dos frutos

##### 5.2.3.1 Análise do óleo essencial com o *headspace*

Para identificar os compostos voláteis, 0,5g dos frutos de *S. terebinthifolia* foram triturados com 1,0g de Sílica em gel 70-230 *mesh*. Após esse processo, as amostras foram depositadas em tubos e incubadas no equipamento *headspace* para obtenção dos compostos voláteis, em pré-injeção no GC-MS para emissãodos dados cromatográficos. Posteriormente, os dados das amostras foram adquiridos através do programa *GC PostRun*. Os dados foram organizados no Excel, e foram submetidos ao Laboratório de Quimiometria da Universidade Federal do Espírito Santo

##### 4.2.7.2 Rendimento do óleo essencial dos frutos

O óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia*, foram divididos em três estádios de maturação, sendo eles: verde (estádio 01); verde rosado e rosado (estádio 2 e estágio 3); vermelho (estádio 04). O óleo foi extraído através do

método de hidrodestilação – que consiste em volatizar o óleo essencial com uma corrente de vapor de água. Para esse processo foi utilizado o aparato de Clevenger<sup>2</sup>, acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 ml.

80g dos frutos de *S. terebinthifolia* foram triturados em liquidificador até obter a característica uniforme, e 700 ml de água deionizada, foram colocados no balão e levados para a manta aquecedora. O tempo de extração foi de 2 horas – contadas a partir da ebulição da amostra.

Após o tempo, o óleo essencial foi extraído através da pipeta e depositado em pequenos frascos, que foram para o *Freezer* afim de congelar a água e depois extrair o óleo. O óleo obtido foi pesado na balança analítica, após esse processo foi realizado o cálculo (fórmula abaixo) para determinar o rendimento de óleo essencial em cada estágio de maturação.

$$\% \text{ de óleo essencial} = \frac{\text{massa de óleo essencial obtido (g)}}{\text{Massa dos frutos secos (g)}} \times 100 \quad (2)$$

#### 4.2.7 Análise física dos frutos

Os frutos de *S. terebinthifolia* foram analisados mantendo as condições de campo. Para as análises físicas dos parâmetros biométricos, foram selecionados aleatoriamente cem frutos de cada estágio de maturação (1,2,3,4,5) dos genótipos BAAr 05, os frutos foram medidos através o paquímetro, afim de determinar o comprimento e o diâmetro dos frutos (mm). Posteriormente, através da lupa, cem frutos de cada genótipo e estágio de maturação, foram analisados quanto aos danos externos (pequenas perfurações bióticas) provocados pelo inseto *Megastigmus* sp. (Hymenoptera: Chalcidoidea).

A balança analítica foi utilizada com o propósito de estabelecer o peso de cem frutos de cada estágio. Para determinar a massa seca, cem frutos foram pesados e depositados em sacos de papel e alocados na estufa à 40°C. Após

---

<sup>2</sup> O aparato de Clevenger promove a separação do óleo e da água. O aparelho gera o resfriamento do óleo, evitando a decomposição (COLE, 2008).



dois dias, foram retirados e pesados novamente, com o objetivo de avaliar o teor de água presente nas amostras.

#### **4.2.8 Análise estatística**

Os dados obtidos para as análises de biometria e teor de água foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) no programa *Assistat software* versão 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Os resultados dos compostos voláteis foram submetidos a uma análise exploratória dos dados aplicando a Análise dos Componentes principais (PCA), para possibilitar a visualização da correlação entre as variáveis e os possíveis agrupamentos entre as amostras, através do programa estatístico *Matlab* versão 7.12.0 (*MathWorks Inc. Natick, MA*).

#### **4.2.9 Construção de modelos quimiométricos**

Para a aplicação da análise de componentes principais os dados obtidos foram organizados através do programa Excel. Com isso, foram construídos os modelos referentes aos estádios de maturação do genótipo BAAr 05.

Foi aplicada a PCA (BRERETON, 2003; FERREIRA, 2015), na matriz de dados pré-tratados. A matriz inicial composta por 15 amostras e um total de 57400 variáveis.

A construção dos modelos foi realizada em quatro etapas principais: 1) Pré-processamento com alinhamento de base; 2) Pré-processamento com alinhamento dos picos; 3) Pré-processamento com dados centrados na média; 4) Construção e avaliação dos modelos.

#### 4.2.9.1 Pré processamento dos dados e alinhamento dos cromatogramas

Os cromatogramas foram submetidos ao alinhamento de base (Figura 06) com algoritmo *air-PLS* (do inglês, *Adaptative Iteratively Reweighted- penalized least squares*), que corresponde a um algoritmo de ajuste da linha de base, sendo um meio rápido e flexível, esse procedimento é executado de forma interativa para aproximar gradualmente uma linha de base complexa.

Os picos foram alinhados com o método de correlação por intervalos *Icohift* (do inglês, *interval-correlation-shifting*) – que desloca intervalos de cada espectro para a direita ou para a esquerda com o intuito de obter correlação máxima em relação à média espectral naquele intervalo, assim dois picos correspondentes passam coincidir entre todos os espectros (SAVORANI; TOMASI; ENGELSEN, 2010).

O cromatograma foi configurado com 50 intervalos de espaços iguais pelo tempo de retenção e nesses intervalos os picos foram alinhados tendo como alvo um cromatograma médio. Além disso, os dados foram submetidos à análise através do discriminante de Fisher<sup>3</sup>. Os dados dos modelos construídos foram centrados na média.

---

<sup>3</sup> A análise é uma técnica multivariada utilizada afim de diferenciar ou discriminar populações e classificar indivíduos, transformando dados multivariados em uma nova variável por meio da variável principal (CAMPOS, 2012).

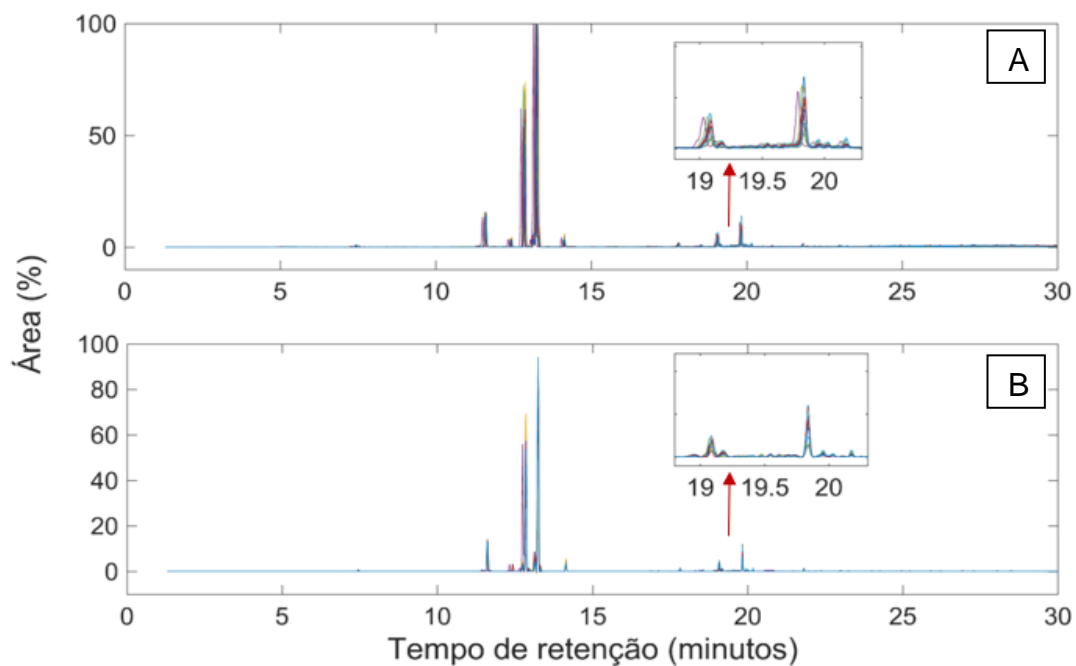


Figura 06 - Picos desalinhados, antes do processo (A), e sobrepostos, após o procedimento (B).

As informações mais relevantes dos resultados foram extraídas do conjunto de dados, diminuindo para uma pequena quantidade de variáveis. Com a redução das variáveis, através do programa *Matlab*, foi possível conseguir agrupamentos entre as amostras de acordo com suas similaridades.

## 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.3.1 Cromatogramas das amostras

O cromatograma apresentado na figura07 é representativo de todas as amostras pesquisadas, demonstrando os picos nos tempos de retenção.

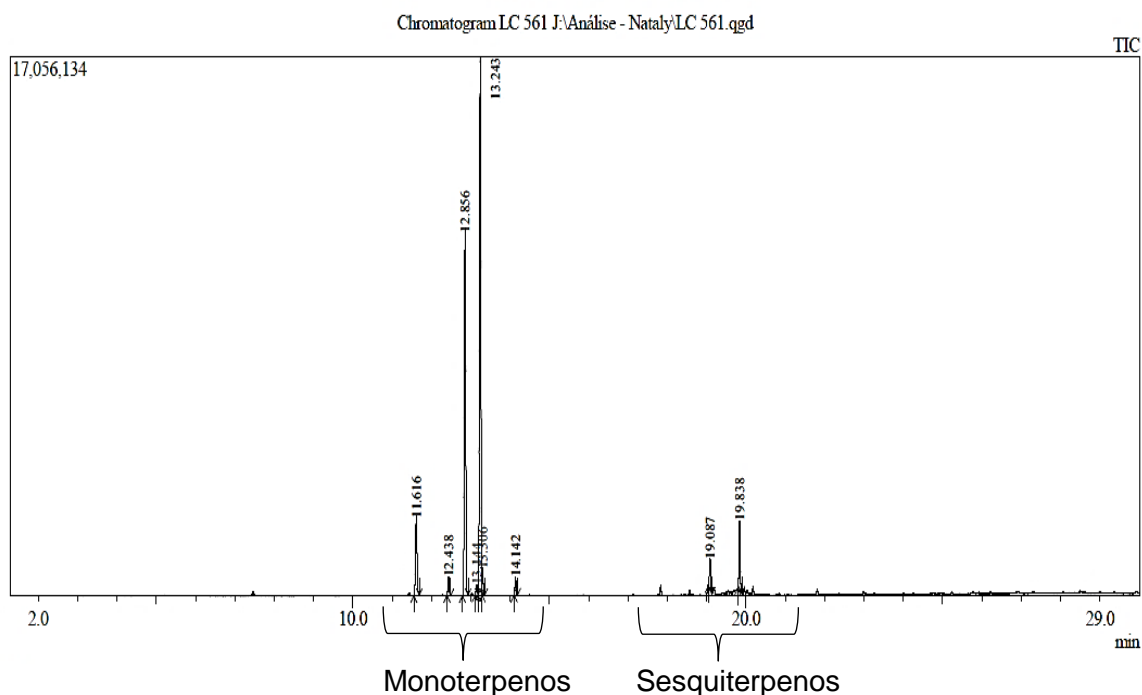


Figura 07 - Cromatograma dos frutos do genótipo BAAr 05 (Estádio 01).

Com a técnica HS-GC-MS foi possível obter inúmeros picos, divididos em dois grandes grupos, os monoterpenos de maior volatilidade e menor massa molecular (tempos de retenção entre 11 e 15 min) e os sesquiterpenos de maior volatilidade e maior massa molecular (tempos de retenção entre 18 e 20 min).

### 4.3.2 Identificação dos compostos voláteis

Com base na plataforma *NIST*, os espectros foram comparados; quanto maior a semelhança entre os espectros, ou índice de similaridade, maior a confiabilidade na identificação molecular. A tabela 01 mostra as nove substâncias principais do óleo essencial de frutos de *S. terebinthifolia*, contendo dados relativos a tempo de retenção (TR), área relativa dos picos (A%), fórmula molecular e índice de similaridade (IS). As moléculas contendo

dez carbonos são os monoterpenos e àquelas contendo quinze carbonos, os sesquiterpenos. Dessa forma, foram identificados sete monoterpenos ( $\alpha$ -Pineno;  $\beta$ -mirceno;  $\alpha$ -felandreno; p-cimeno; Limoneno;  $\beta$ -felandreno;  $\delta$ -3-careno) e dois sesquiterpenos ( $\beta$ -Cariofileno e Germacreno-D).

Tabela 01 – Compostos voláteis dos frutos do genótipo BAAr 05 em frutos verdes (estádio de maturação 01).

Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	IS
1	11.618	8,06	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	96
2	12.440	1,51	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95
3	12.860	32,47	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94
4	13.150	0,84	p-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	93
5	13.247	46,82	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95
6	13.308	1,95	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	89
7	15.372	1,15	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	92
8	19.089	2,21	$\beta$ -Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub>	89
9	19.840	4,45	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	93

Somatório A% = 99,46

#### 4.3.3 Comparação da técnica *headspace* com outros métodos analíticos na análise dos frutos de *S. terebinthifolia*

Os frutos que *S. terebinthifolia* apresentam grande quantidade de óleo essencial, em vista disso, o mercado farmacêutico e alimentício (nacional e internacional), possuem interesse na extração dessas substâncias. Por conta disso, diversas técnicas são utilizadas afim de apresentarem maior eficiência no processo de extração e identificação das substâncias voláteis.

Assim, através do equipamento *headspace*, a análise dos frutos de *S. terebinthifolia* foi realizada com o mínimo de pré-processamento. Com isso, os frutos foram triturados com sílica em gel, e foram injetados no amostrador automático *headspace*, cada amostra teve o tempo de 30 minutos, apresentando como uma técnica mais rápida do que as descritas na literatura, quanto a identificação dos componentes do óleo essencial, no genótipo BAAr 05 foram identificadas nove substâncias: Germacreno-D, limoneno, p-cimeno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -Pineno,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -felandreno,  $\beta$ -mirceno,  $\delta$ -3-careno.

Com relação ao tempo, estudos de Nicolini; Puget e Mazza (2009) buscaram comparar os métodos de hidrodestilação e arraste a vapor, constatando que a técnica por arraste a vapor é mais eficiente quanto ao tempo e rendimento do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia*. Nesse sentido, pesquisas de Dourado (2012), compararam a extração do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia* por meio dos métodos de destilação por arraste a vapor e o método de Soxhlet (extração com solvente a quente), concluindo que a análise por arraste a vapor possui maior rapidez com relação ao método de Soxhlet. As análises de arraste a vapor duram em média 3 horas para fazer a extração (NICOLINI; PUGET; MAZZA, 2009) e análise de Soxhlet em média 6 horas (DOURADO, 2012). Além disso, para realizar a identificação das amostras será necessário cerca de 1h para a técnica de cromatografia gasosa com espectrômetro de massa (GC-MS), afim de separar e identificar os componentes. Dessa forma, com o uso da técnica HS-GC-MS, foi possível otimizar o processo de separação e identificação da amostra, visto que demorou cerca de meia hora para realizar o processo, pois essa análise exige uma simplificação no pré-tratamento das amostras, apresentando como benefícios: a redução do tempo gasto na etapa inicial; menor perda da amostra e geração de resíduos. Além disso, a técnica acoplada ao GC/MS identifica com maior precisão os componentes majoritários.

Estudos de Oliveira e colaboradores (2014), verificaram o tempo ideal de destilação e o perfil volátil do óleo essencial de *S. terebinthifolia*. 100g dos frutos foram destilados por meio do aparato de Clevenger durante 2,5h – 4h- 5,5h e 7h - contando as horas a partir da ebulição da água. Esse material destilado foi analisado por cromatografia a gás acoplada a espectrofotômetro de massas afim de obter o perfil das substâncias voláteis do óleo essencial. Nesse estudo a destilação em aparato de Clevenger por 2,5h demonstrou-se como o período ideal para obter o óleo essencial, visto que o aumento do tempo de exposição a alta temperatura pode modificar as concentrações dos compostos majoritários.

Relacionando com os componentes encontrados por Oliveira e colaboradores (2014), grande parte dos compostos apresentaram diferença, onde se verificou

a presença de:  $\rho$ -menth-1-en-9-ol;  $\alpha$ -tujeno; canfeno;  $\alpha$ -fencheno; acetato de terpinen-4-ol; acetato de bornila; terpinen-4-ol;  $\alpha$ -terpineol;  $\delta$ -cadineno; hedicariol;  $\alpha$ -gurjuneno;  $\alpha$ -eudesmol;  $\beta$ -eudesmol. Entretanto, apresentam similaridades entre os componentes:  $\beta$ -pineno, germacreno-D, cariofileno.

Nas pesquisas de Ennigrou e colaboradores (2016), através do método de hidrodestilação pelo aparato de Clevenger o óleo essencial foi extraído, e após esse processo foi analisado através da cromatografia (GC-MS), foi possível identificar 95 componentes dos frutos de *S. terebinthifolia*, independentes do estágio de maturação. Entre as substâncias identificadas, os componentes majoritários encontradas se assemelharam com a presente pesquisa, sendo os monoterpenos:  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -pineno e limoneno; e o sesquiterpeno germacreno-D. Em contrapartida, de acordo com os estudos de Schimitbergere colaboradores (2018), usando a mesma metodologia, realizou a detecção de 98 substâncias do óleo de *S. terebinthifolia* entre esses componentes  $\delta$ -3-careno e limoneno, são considerados majoritários.

Contudo, segundo Ennigrou e colaboradores (2016) a composição do óleo essencial nos frutos de *S. terebintholius* apresenta variação de acordo como o processamento e método analítico.

#### 4.3.4 Análises dos componentes químicos dos frutos

##### 4.3.4.1 Rendimento do óleo essencial dos frutos

Os óleos essenciais que foram extraídos dos frutos de *S. terebinthifolia* apresentaram a característica de forte aroma e coloração clara. A porcentagem de rendimento do óleo essencial variou de 2,12% no estágio 1 (fruto verde), 2,57% no estágio intermediário - 2 e 3 (fruto verde rosado e rosado), e 3,76% no estágio 4 (fruto vermelho) (Figura08).

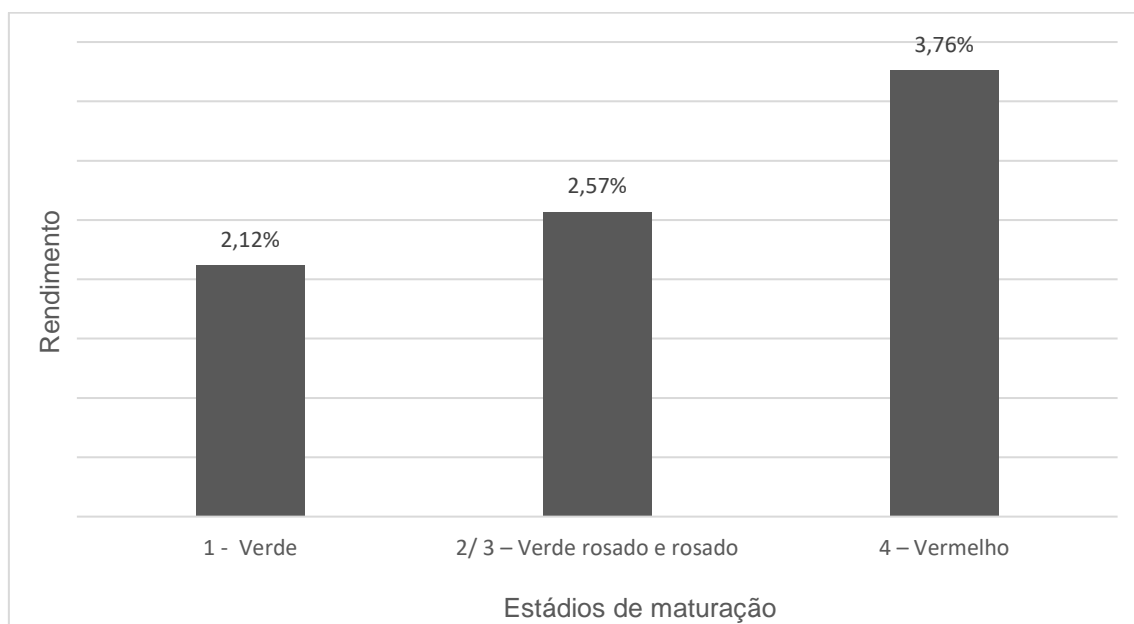


Figura08 - Rendimento do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia* em diferentes estágios de maturação.

Os resultados do rendimento do óleo essencial nos estágios de maturação estão próximos com os resultados de Nicolini; Puget e Mazza (2009), onde verificaram cerca de 2,6% do rendimento no estágio vermelho (estádio 4). Outros trabalhos como o de Schimitbergere colaboradores (2018), mostraram que o rendimento do óleo essencial dos frutos maduros foi maior do que os frutos verdes, conforme obtido nesta pesquisa. Entretanto, estudos de Cole (2008) e Bertoldi (2006) evidenciaram em seus experimentos a variação de rendimento de 5,6% a 7,7%. Segundo Carvalho e colaboradores (2016), o rendimento do óleo essencial dos frutos resultou em 5,3%, superiores aos obtidos nessa pesquisa.



A variação dos resultados referentes ao rendimento do óleo essencial em frutos de *S. terebinthifolia* está relacionada com os fatores abióticos (intensidade luminosa, temperatura, nutrição mineral, disponibilidade de água), e com os fatores bióticos, como as injúrias provocadas por insetos e microorganismos (LIMA; KAPLAN; CRUZ, 2003; GOBBO-NETO, L; LOPES, 2007). Neste sentido, Barbosa e colaboradores (2007) evidenciaram também a influência da variação sazonal na composição de óleos essenciais dos frutos de aroeira.

Em síntese, o rendimento do óleo essencial da espécie em discussão possui tendência de aumento no decorrer dos estádios de maturação do fruto. Todavia, destaca-se neste ponto a necessidade de devida atenção aos fatores bióticos e abióticos, no que tange a sua capacidade de resultar em alterações na quantidade de óleo essencial.

#### **4.3.5 Compostos voláteis de *S. terebinthifolia***

Pela análise por espectrometria de massas foram detectados nove componentes em todos os estádios de maturação do genótipo BAAr 05. Foi possível verificar os compostos com seus respectivos tempos de retenção (TR), área relativa (A%), nomenclatura, índice de similaridade (SI) e referência (Tabela 02). Os principais componentes encontrados a partir do equipamento *headspace* foram: Germacreno-D, limoneno, p-cimeno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -Pineno,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -felandreno,  $\beta$ -mirceno,  $\delta$ -3-careno. Esses resultados se aproximam dos dados de Cavalcanti e colaboradores (2015), onde os compostos encontrados em maiores concentrações nos frutos de *S. terebinthifolia* foram:  $\delta$ -careno (41,01%),  $\alpha$ -felandreno (14,40%), limoneno (12,36%) e  $\alpha$ -pineno (10,36%).

Entretanto, Cole (2008) constatou a predominância de terpenos nos frutos de *S. terebinthifolia*. Dentre eles, os mais abundantes foram os monoterpenos (85,81%), destacando entre seus principais constituintes:  $\delta$ -3-careno (30,37%), limoneno (17,44%),  $\alpha$ -felandreno (12,60%),  $\alpha$ -pineno (12,59%), mirceno (5,82%) e o o-cimeno (3,46%). Em menor proporção observou-se também os

sesquiterpenos (5, 34%), sendo identificados *trans*-cariofileno,  $\gamma$ -muuruleno, *E,E*- $\alpha$ -farneseno,  $\delta$ -cadineno e epi- $\alpha$ -cadinol.

Estudos de Gurovic; Marray e Ferrero (2007) para a identificação dos compostos voláteis demonstraram os principais componentes do óleo essencial de *S. terebinthifolia* através de cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas, sendo detectados: limoneno,  $\alpha$ -felandreno e sabineno. Entretanto, Silva e colaboradores (2017) ao utilizarem a mesma metodologia, detectaram os seguintes componentes:  $\delta$ -3-careno,  $\alpha$ -felandreno, limoneno, germacreno-D e cariofileno.

Entre as pesquisas que relacionaram os estádios de maturação do fruto, destaca-se os estudos de Barbosa e colaboradores (2007), realizando uma comparação entre os componentes dos óleos essenciais de *S. terebinthifolia* dos frutos maduros e imaturos, através do aparato de Clevenger, juntamente com as análises por espectrometria de massas. Os resultados demonstraram uma variação do óleo essencial. Nos frutos imaturos foram identificados os sesquiterpenos:  $\alpha$ -cadinol,  $\alpha$ -cadineno, epi- $\alpha$ -muurolol. Nos frutos maduros, por sua vez, identificaram  $\alpha$ -cadinol, elemol e germacreno-D, como preponderantes.

Estudos de Ennigorou e outros (2016) avaliaram as alterações fitoquímicas relacionadas a maturação dos frutos. Nesse estudo foram avaliados três estádios de maturação: fruto imaturo, fruto vermelho-intermediário e fruto completamente maduro. Com a maturação do fruto, os compostos químicos aumentaram, com exceção do  $\alpha$ -pineno que diminuiu de acordo com a maturação. Além disso, os compostos:  $\alpha$ -felandreno,  $\beta$ -felandreno e limoneno tiveram variações irregulares entre os estádios de maturação. Dessa forma, esse estudo constatou que o processo de maturação dos frutos de *S. terebinthifolia* foi acompanhado por diversas mudanças nos atributos quantitativos e qualitativos dos componentes químicos.

Nas pesquisas de Schimitberger e colaboradores (2018), ao avaliarem os compostos voláteis dos frutos imaturos e maduros, constataram que ambos os estádios de maturação do fruto apresentavam, majoritariamente:

monoterpenos, representando 80,65% dos compostos identificados nos frutos verdes e 81,36% para os frutos maduros; o restante dos compostos químicos foram identificados como sesquiterpenos. As substâncias predominantes nos frutos maduros foram  $\delta$ -3-Carene (46,67%) e  $\alpha$ -pineno (14,98%).

Entre os compostos identificados na presente pesquisa, destaca-se o limoneno (Figura09). Esse composto apresentou aumento no decorrer do processo de maturação do fruto, entre o estágio 1 ao estágio 4, diminuindo no estágio 5. Isso ocorre devido a degradação do quinto estágio de maturação. Quanto aos outros compostos, obtiveram variações irregulares entre os estádios de maturação (Figura 10).

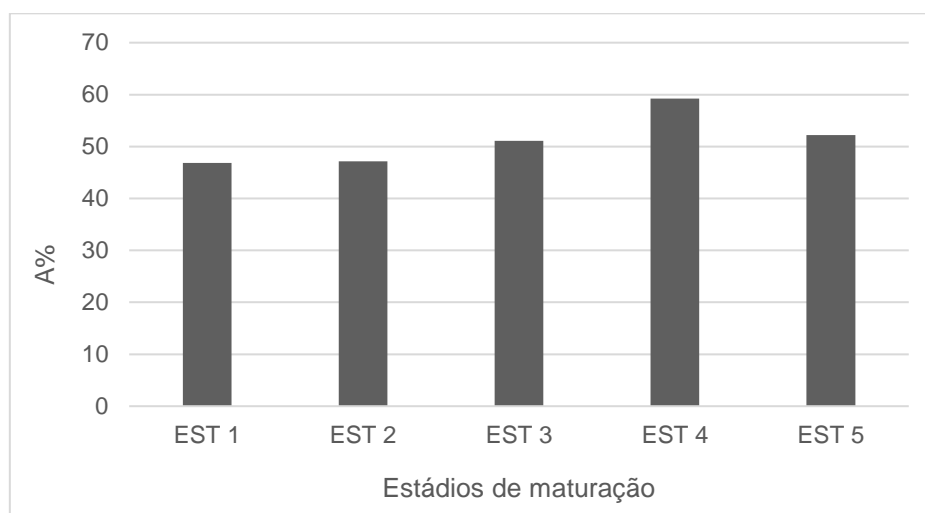


Figura09 - Variação de limoneno entre os estádios de maturação

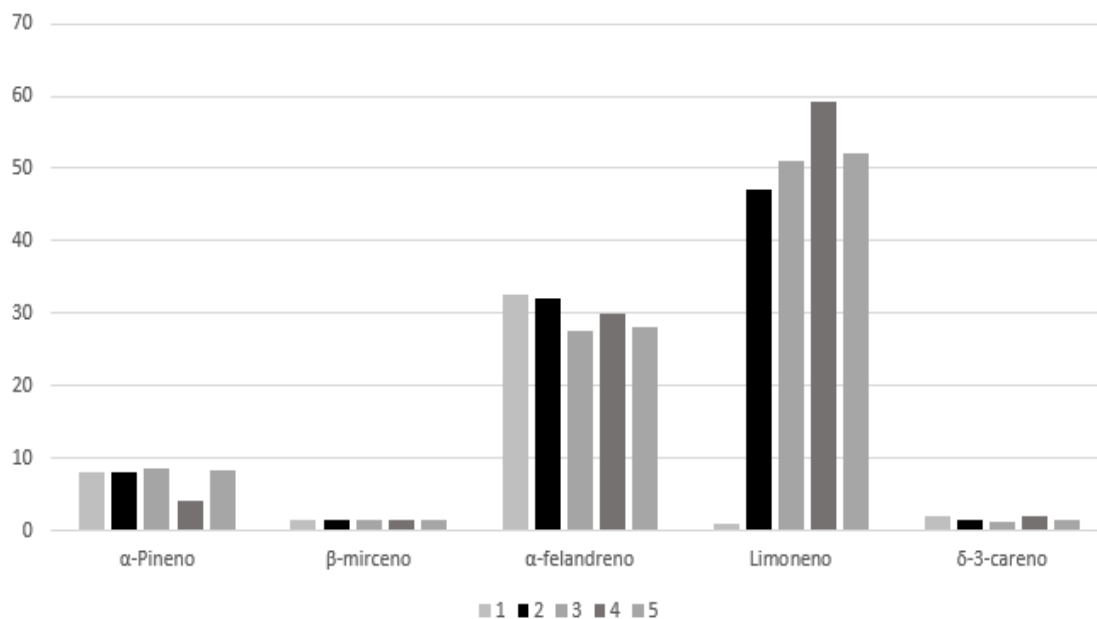


Figura 10 - Principais componentes dos estádios de maturação.

A composição e a quantidade do óleo essencial em plantas estão diretamente relacionadas à fatores genéticos, porém, os fatores ambientais podem causar variações significativas em seus constituintes, destacando-se o período da colheita (época e horário), método de secagem do material vegetal, umidade, teor de água, condições do solo, e presença de patógenos (FERRONATTO et al., 2007; GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Além disso, o processamento e métodos analíticos também influenciam na composição do óleo essencial (ENNIGOROU et al., 2016).

Tabela 02- Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr 05 de *S. terebinthifolia*

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	SI	Referências
EST 1	1	11.618	8,06	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	96	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 1	2	12.440	1,51	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
EST 1	3	12.860	32,47	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
EST 1	4	13.150	0,84	p-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	93	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
EST 1	5	13.247	46,82	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 1	6	13.308	1,95	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	89	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
EST 1	7	15.372	1,15	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	92	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 1	8	19.089	2,21	$\beta$ - Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	89	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
EST 1	9	19.840	4,45	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.
EST 2	1	11.565	8,13	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	96	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 2	2	12.389	1,59	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
EST 2	3	12.810	32,05	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
EST 2	4	13.197	47,13	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
EST 2	5	13.260	1,77	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	89	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 2	6	13.767	1,38	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 2	7	15.384	1,27	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 2	8	19.061	2,58	$\beta$ - Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	89	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
EST 2	9	19.815	4,52	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.
EST 3	1	11.616	8,49	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	96	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 3	2	12.428	1,6	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
EST 3	3	12.848	27,7	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
EST 3	4	13.144	2,85	p-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
EST 3	5	13.237	51,12	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.

(Continua)

(Continuação)

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	SI	Referências
EST 3	6	13.297	1,84	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	91	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
EST 3	7	14.135	1,1	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 3	8	19.086	1,8	$\beta$ - Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	90	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
EST 3	9	19.837	3,62	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	92	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.
EST 4	1	11.621	4,1	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	96	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 4	2	12.443	1,56	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
EST 4	3	12.877	29,93	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	90	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
EST 4	4	13.166	1,15	p-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	94	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
EST 4	5	13.281	59,24	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 4	6	13.335	0,36	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	92	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
EST 4	7	14.148	1,95	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 4	8	19.093	0,68	$\beta$ - Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	91	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
EST 4	9	19.842	1,14	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	91	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.
EST 5	1	11.618	8,21	$\alpha$ -Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 5	2	12.439	1,59	$\beta$ -mirceno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
EST 5	3	12.860	28,55	$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
EST 5	4	13.156	1,98	p-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	94	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
EST 5	5	13.252	52,21	Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
EST 5	6	13.311	1,31	$\beta$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	90	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
EST 5	7	14.146	1,52	$\delta$ -3-careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
EST 5	8	19.093	1,7	$\beta$ - Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	91	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
EST 5	9	19.842	3,16	Germacreno-D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	90	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.

#### 4.3.5.1 Análise dos componentes principais (PCA)

A PCA foi utilizada afim de resumir os dados químicos da matriz inicial provenientes da técnica HS-GC-MS. Os resultados da porcentagem de variância para os cinco estádios de maturação do genótipo BAAr 05 (Figura 11), explicada pelo modelo de análise dos componentes principais, foram responsáveis por 90,93% da variação. O primeiro componente principal (CP1) demonstrou ser responsável por explicar 61,29% da variação, no sentido de promover maior alteração no conjunto de dados. O segundo componente principal (CP2), por sua vez, apresentou-se responsável por 16,85% da variação; o terceiro (CP3) por 6,78% da variação, e o quarto componente principal (CP4), 6,01% da variação.

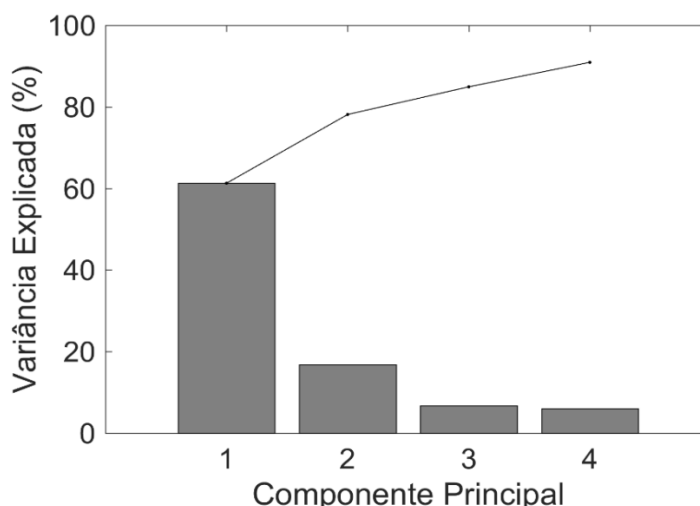


Figura 11 - Variância dos cinco estádios de maturação do genótipo BAAr 05.

A análise através do método de PCA também foi utilizada com o objetivo de detectar e avaliar os padrões das amostras, extraindo as informações mais importantes do conjunto de dados e conservando a maior parte da variância. Através do treinamento não-supervisionado (método que não exige suposição inicial sobre os dados), foi possível reconhecer agrupamentos naturais dos componentes principais (Figura 12).

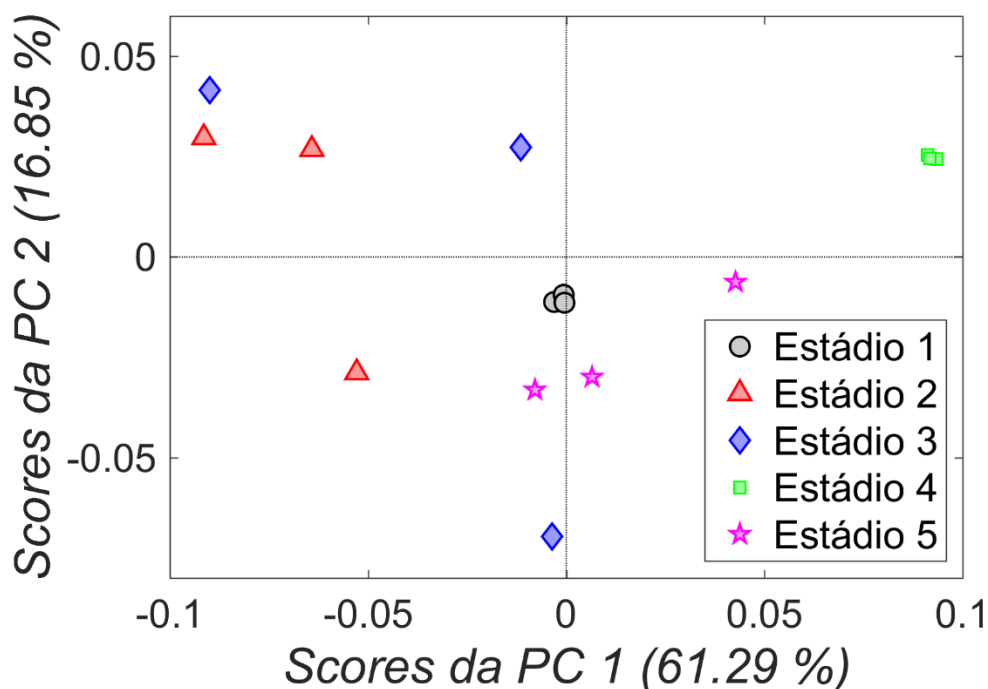


Figura 12- Representação gráfica de scores dos estádios de maturação do genótipo BAAR 05

No agrupamento da PCA, os scores representam as coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelos componentes principais (PC), e indicam as relações de similaridade entre as amostras. Cada componente principal é formado pela combinação das variáveis originais e pelos coeficientes, denominados como pesos (*loadings*<sup>4</sup>), que retratam a contribuição de cada variável para a formação dos PC.

Assim, foi possível detectar o agrupamento dos compostos voláteis dos estádios de maturação do genótipo BAAR 05. No estádio de maturação 01 (Fruto verde) as triplicatas da alíquota se agruparam, e no estádio 02 (Fruto verde-rosado) e estádio 03 (Fruto rosado) as amostras se dispersaram. Isso acontece por conta desses estádios de maturação serem de transição do verde ao vermelho, sendo estádios intermediários. No estádio 4 (Fruto vermelho), as alíquotas também apresentaram o agrupamento; e no estádio 5 (Fruto vermelho intenso “passado”) as amostras apresentaram dispersão, devido a característica do estádio estar relacionada com o processo de deterioração.

<sup>4</sup> *Loadings*, matematicamente, são cossenos dos ângulos das variáveis originais e componentes principais; representam o quanto cada variável original contribui para um determinado componente principal (FERREIRA, 2015).



#### 4.3.6 Análises físicas dos frutos

Os atributos físicos variaram significativamente entre os estádios de maturação e contribuíram para a caracterização do genótipo. Ao comparar os cinco estádios de maturação, os resultados mostraram que houve diferença em relação aos diâmetros do eixo central e longitudinal dos frutos (Tabela 03).

Tabela 03 - Caracterização física dos frutos do genótipo BAAr-05 de *S. terebinthifolia* em diferentes estádios de maturação.

Estádio de maturação	Eixo central	Eixo longitudinal
1	2.01667 a <sup>1</sup>	3.00333 a <sup>1</sup>
2	1.52000 b <sup>1</sup>	2.52000 b
3	2.10333 a <sup>1</sup>	3.10333 a <sup>1</sup>
4	2.00333 a <sup>1</sup>	3.00333 a <sup>1</sup>
5	1.98667 a <sup>1</sup>	2.98333 a <sup>1</sup>

<sup>1</sup>As médias de três repetições seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

No segundo estágio de maturação (verde-rosado) os frutos apresentaram dimensões menores que os frutos do primeiro estágio de maturação (fruto verde), com relação ao diâmetro do eixo central e longitudinal inferior. A diferença de formato pode estar relacionada aos fatores ambientais, evidenciando o período de seca durante o segundo estágio de maturação (FRITSCHÉ-NETO; BORÉM, 2011). Os estudos dos parâmetros biométricos dos frutos de *S. terebinthifolia* demonstraram que tal discrepância no estágio 02 pode estar associada com as condições climáticas, como a variação de temperatura e período de seca; tendo em vista que abril de 2017 - período da maturação do fruto no estágio 2 - foi caracterizado pela estiagem (sem índices de chuva) (Figura 13a), diferente do mês de maio (Figura 13b), que apresentou maiores precipitações pluviométricas (INCAPER, 2018), indicando assim o aumento do tamanho do fruto.

Esse fato se comprova através dos estudos de Fritsche-Neto e Borém (2011), onde afirmam que as plantas se adaptam ao déficit hídrico através de diversas alterações, podendo ser: morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares.

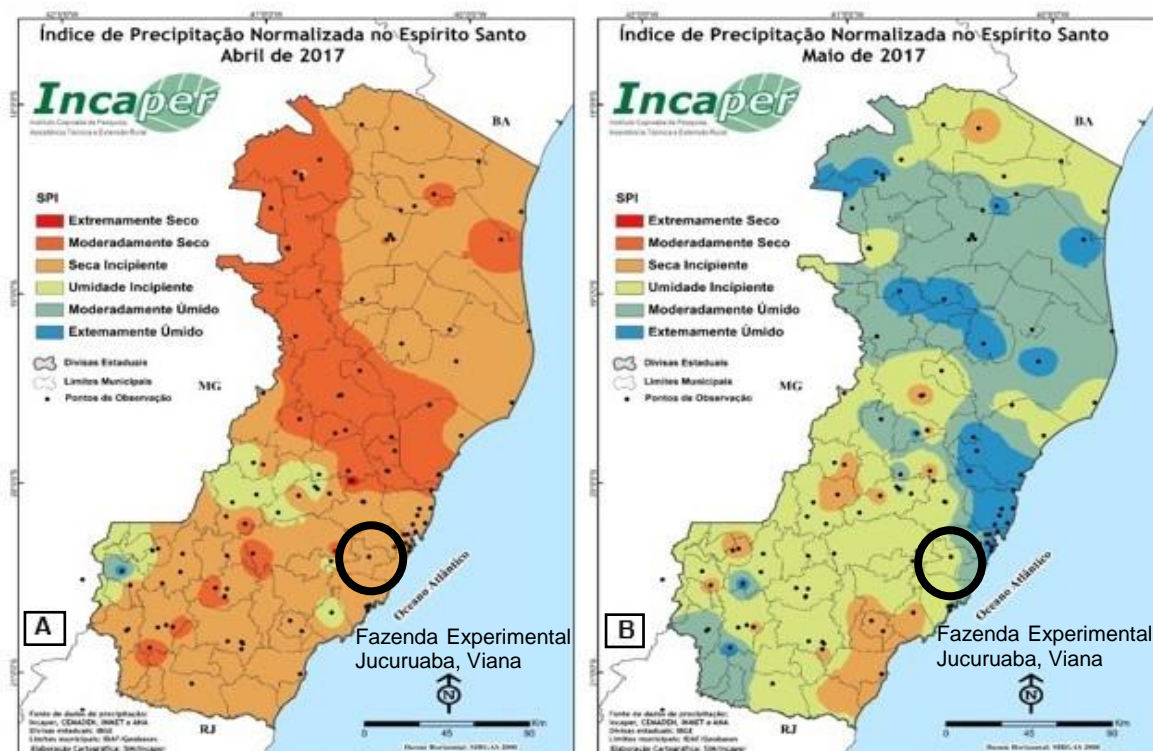


Figura 13 - Caracterização climática do Espírito Santo no período de abril/2017 (A) e maio/2017 (B).  
Fonte: INCAPER (2018).

Na análise de teor de água, os resultados evidenciaram que os frutos de *S. terebinthifolia* apresentaram médias de 66,74%, 72,44%, 70,16%, 47,39% e 46,40% para os estádios: verde (estádio 1), verde-rosado (estádio 2), rosado (estádio 3), vermelho (estádio 4) e vermelho intenso (estádio 5), respectivamente, apontando diferença estatística entre si, reduzindo à medida que ocorre a maturação dos frutos (Tabela 04). Observa-se, no entanto, que a massa seca dos frutos do estágio 01 e estágio 4 e 5 não diferem estatisticamente, mas os estádios 2 e 3, são estatisticamente menores.

Tabela 04 - Análise do teor de água dos frutos do genótipo BAAr 05 de *S. terebinthifolia*

Estádio de maturação	Massa Fresca	Massa seca	Teor de água
1	85.12666 a <sup>1</sup>	28.31333 a <sup>1</sup>	66.74012 b <sup>1</sup>
2	81.09666 b <sup>1</sup>	22.34667 b <sup>1</sup>	72.44309 a <sup>1</sup>
3	75.89000 c <sup>1</sup>	22.63667 b <sup>1</sup>	70.16943 a <sup>1</sup>
4	54.39000 d <sup>1</sup>	28.61333 a <sup>1</sup>	47.39651 c <sup>1</sup>
5	53.36666 d <sup>1</sup>	28.60000 a <sup>1</sup>	46.40811 c <sup>1</sup>

<sup>1</sup>As médias de três repetições seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Segundo Dourado (2012), o teor de água de frutos verdes de *S. terebinthifolia* foi de 70,40% e dos frutos maduros de 34,05%. Pesquisas de Toti e Medeiros (2006), apresentaram valores de 65,4% e 55,6%, para frutos verdes e maduros. Sendo que nessa pesquisa, observou-se em média 69,78% (média dos estádios 1,2,3) para os frutos verdes, e 46,8 para os frutos maduros (média dos estádios 4 e 5).

A variação entre os estádios de maturação da presente pesquisa, apresenta-se como possível consequência do estágio de maturação do fruto e disponibilidade de água fornecida na plantação, bem como da umidade relativa de ar do ambiente, o estágio 2 apresentou 72,44% de teor de água, revelando maior quantidade que os demais estádios de maturação. Isso pode ser explicado pelo fato da ocorrência do período de seca no intervalo do segundo estágio de maturação, sendo possível verificar que, como forma de adaptação ao déficit hídrico, ocorreu maior capacidade de absorção de água pela planta. Além disso, é da natureza dos frutos de *S. terebinthifolia* perder água no decorrer da maturação dos frutos, devido aos processos metabólicos (FRITSCHÉ-NETO; BORÉM, 2011).

Além dos fatores abióticos, os frutos de *S. terebinthifolia* também foram submetidos às análises de agentes bióticos, envolvendo o inseto *Megastigmus transvaalensis* (Figura 14a), considerado como praga dos frutos desta espécie, e que interfere na qualidade pós-colheita do fruto, por provocar uma pequena abertura no fruto (Figura 14b), podendo ocorrer a contaminação por microorganismos e alterar a qualidade química dos frutos.

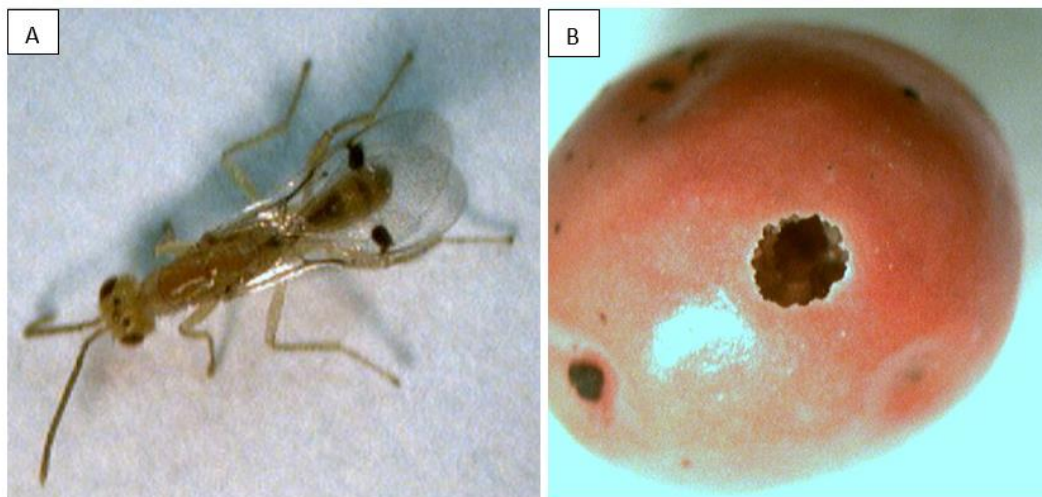


Figura 14 -Praga dos frutos de aroeira, *Megastigmus transvaalensis* (A).  
Perfuração nos frutos causada pela larva da praga (B).  
Fonte: Ventura (2016).

Os frutos de foram analisados nos cinco estádios de maturação: verde; verde-rosado (verdolengo); vermelho e vermelho intenso. Através das análises estatísticas, por meio da incidência de *M. transvaalensis*, determinando-se a incidência absoluta que inclui o número que representa a quantidade de frutos brocados (Figura 15) e incidência cumulativa, relacionada com o somatório crescente dos valores dos dados absolutos (Figura 16).



Figura 15- Incidência absoluta de frutos de aroeira com perfuração provocada por *Megastigmus* sp.

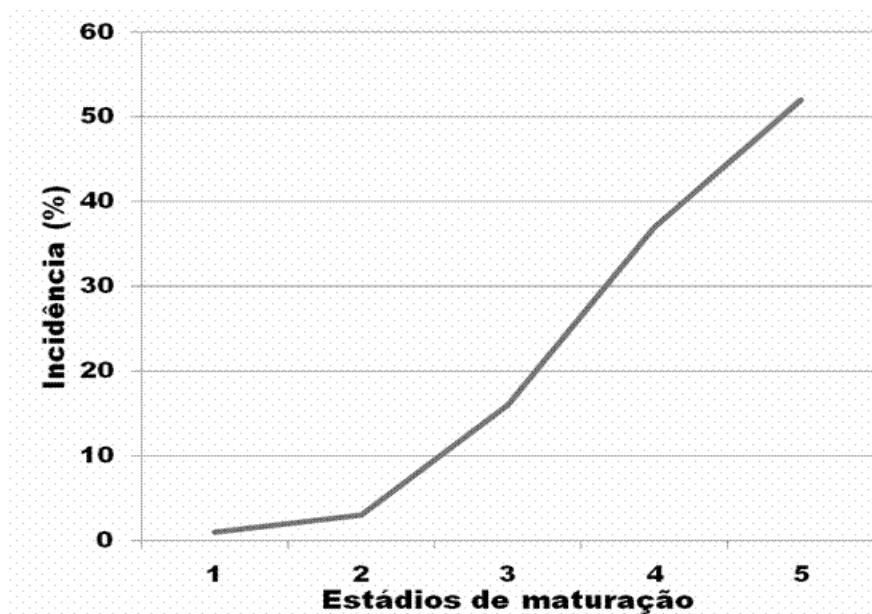


Figura 16 - Incidência cumulativa de frutos de aroeira com perfuração provocada por *Megastigmus* sp.

Observando os resultados absolutos e cumulativos, foi possível constatar que a infestação do inseto se inicia no estágio de maturação 01 (verde), e se intensifica no estágio 4 (vermelho), chegando a mais de 20%, apresentando um aumento significativo conforme o amadurecimento do fruto, reduzindo no estágio 05, onde a maioria das larvas já abandonaram os frutos e o que é justificado pela baixa qualidade de água nesta fase de maturação dos frutos. A quantidade de fruto brocados nos diferentes estádios de maturação chegou a mais de 50% (Figura 11).

#### 4.5 CONCLUSÃO

A técnica HS-GC-MS demonstrou-se promissora, visto que o método apresenta otimização no processo de separação e identificação, pois a essa análise exige uma simplificação no pré-tratamento das amostras, apresentando como benefícios: a redução do tempo gasto na etapa inicial; menor perda da amostra e geração de resíduos. Com relação as outras técnicas, através do HS-GC-MS ocorre maior precisão na identificação dos componentes.

HS-GC-MS possui o potencial como uma ferramenta para identificação de estádios de maturação dos frutos egenótiposde *S.terebinthifolia*, confirmando a particularidade dos estádios quanto a quantidade e composição química.

De acordo com as análises dos componentes principais dos perfis cromatográficos dos frutos de *S.terebinthifolia*, do genótipo BAAr 05, os compostos majoritários identificados pela técnica HS-GC-MS foram: Germacreno-D, limoneno, p-cimeno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -Pineno,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -felandreno,  $\beta$ -mirceno,  $\delta$ -3-careno. O óleo essencial dos frutos, não apresentou diferenciação dos componentes entre os estádios de maturação. Entretanto, através do ciclo de maturação dos frutos, ocorre a acumulação dos metabolitos secundários, justificando a alteração na A% dos componentes e aumentando o rendimento do óleo do fruto. Com isso, é possível sugerir o estágio de maturação 4 (fruto-vermelho) como melhor para a colheita dos frutos, quando o rendimento do óleo essencial e os teores dos componentes são maiores, no caso do limoneno, que chegou a aproximadamente 60%.

Ocorreu grande variação no teor do óleo essencial. Por esse motivo a importância de disseminar entre os produtores rurais os genótipos de Banco germoplasma, com intuito de manter um padrão de qualidade do óleo essencial dos frutos. Além disso, os fatores bióticos (insetos) e abióticos (sazonalidade, horário da coleta, solo) interferem na qualidade pós colheita, visto que a quantidade e qualidade de metabolitos secundários são alterados conforme ocorre a interação desses fatores (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

## 5.6 REFERÊNCIAS

ANDRADE, K.S; PONCELET, D; FERREIRA, S.R.S. Sustainable extraction and encapsulation of pink pepper oil. **Journal of food engineering**, p. 1-8, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDC nº 276 de 22/09/2005**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/?inheritRedirect=true#/visualizar/27641>> Acesso em: 24 abr. 2018.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. rev. atual. Viçosa: UFV, 2006.

BAMBA, T.; FUKUSAKI, E. Technical problems and practical operations in plant metabolomics. **Journal of pesticide Science**, v.31, p.300-304, 2006.

BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; CLEMENTE, A.D.; PAULA, V.F. E ISMAIL, F.M.D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolia* Raddi. **Química Nova**, v.30, p.1959-196, 2007.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*Raddi)**.2006. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BRERETON, R.G. **Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. John Wiley & Sons, New York, 2003.

CAMPOS, K.A. **Função discriminante de Fisher como alternativa a análise de variância multivariada**.2012. 107f.Tese (Doutorado em Estatística e experimentação agropecuária) Programa de Pós-Graduação em Estatística e experimentação agropecuária. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

CAMARASU, C; MADICHIE, C; WILLIAMS, R. Recent progress in the determination of volatile impurities. **Trends Anal. Chem**, v.25, n.8, p.768-777, 2006.

CAVALCANTI, A.S.; ALVES, M.S; SILVA, C.P.; PATROCÍNIO, D.S.; SANCHES, M.S.; CHAVES, D.S.A.; SOUZA, M.A.A. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolia* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 25, p. 356–362, 2015.

CEVALLOS-CEVALLOS, J.M.; REYES-DE-CORCUERA, J.I.; ETXEBERRIAA, E.; DANYLUKA, M.D; RODRICK; G.E. Metabolomic analysis in food science: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 557-566, 2009.

CLEMENTE, A.D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da Pimenta-Rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi).**2006. 63f. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

COLE, E.R. **Estudo Fitoquímico do Óleo Essencial dos Frutos da Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e sua Eficiência no Combate ao Dengue.**2008. 82f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

COX, D.G; OH, J; KEASLING. A; COLSON, K; HAMANN, M. The Utility of Metabolomics in Natural Product and Biomarker Characterization. **Biochim Biophys Acta**, 2015.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKY, J. N.; dos SANTOS, R.J. Antioxidant activity of extracts from fruits of Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **Visão Acadêmica**, v.5, n.2, p.83-89, 2004.

DOURADO, M.R. **Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi): propriedades químicas e biológicas.** 2012. 121f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

ENNIGROU. A; CASABIANCA, H; LAARIF, A; HANCHI, B; HOSNI, K. Maturation-related changes in phytochemicals and biological activities of the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) fruits. **South African Journal of Botany**, 2016.

FACUNDO, H. V. V. **Mudanças no perfil sensorial e de voláteis do suco de abacaxi concentrado durante o processamento.** 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações.** UNICAMP, São Paulo, 2015.

FRANCO, M.R.B; JANZANTTI, N.S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. *In*: FRANCO, M.R.B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais.** São Paulo: Livraria Varela, p. 17-38, 2004.

FRITSCHÉ-NETO, R; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos.** Visconde do Rio Branco: Suprema, MG, 2011.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química. Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.



GUROVIC, M.S.V.; MARRAY, A.P.; FERRERO, A.A. Essential oil from fruits and leaves of *Schinus terebintholius* (aroeira) L. with acetylcholinesterase inhibitory activity. **PlantaMed.**, v. 73, 2007.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL- INCAPER. **Índice de Seca**. Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/SPI>>. Acesso em 18 abr. 2018.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL- INCAPER. **Aroeira: um nicho de mercado em expansão na economia capixaba**. Texto disponibilizado em 06 julh. 2016. Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/Not%C3%ADcia/aroeira-um-nicho-de-mercado-em-expansao-na-economia-capixaba>>. Acesso em 29 set. 2016.

JESUS, N.B. **Relações Socioambientais no Extrativismo da Aroeira (*Schinus terebintholius* Raddi) no Baixo São Francisco SE/AI**.2010. 176f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

KAFKAS, E.; KAFKAS, S.; KOCH-DEAN, M.; SCHWAB, W.; LARKOV, O.; LAVID, N.; BAR, E.; RAVID, U.; LEWINSOHN, E. Comparison of Methodologies for the Identification of Aroma Compounds in Strawberry. **Turk J Agric For**. v.29, p. 383-390, 2005.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira vermelha (*Schinus terebintholia*Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 198-201, 2004.

LIMA. H.R.P.; KAPLAN, M.A.C.; CRUZ, A.V.M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenoides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v.10, n. 2, p.71-77, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

LUCENA, P. L. H.; RIBAS FILHO, J. M.; MAZZA, M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.; COR- REA, M. A. C.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; CESCHIN, P.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebintholia* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos, **Acta Cirúrgica Brasileira**, 5p, 2006.

MACHADO, S.M; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebintholia* Raddi (Anacardiaceae). **Acta bot. bras.**,v. 15, n.2, p. 189-195, 2001.

NEVES, E.J.M; SANTOS, A.M; GOMES, J.B.V; RUAS, F.G; VENTURA, J.A. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebintholia*Raddi) para produção de pimenta rosa. Colombo: **Embrapa Florestas**. (Documentos, 294), 2016.

NICOLINI, J. V.; PUGET, F. P.; MAZZA, M. G. G. Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* Raddi (aroeira-vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 2009.

PÉLA, J.J. **Caracterização agrônômica da aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) no município de São Mateus, no Estado do Espírito Santo**. 2013, 74f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

OLIVEIRA, L.F.M; OLIVEIRA JR, L.F.G.; SANTOS, M.C; NARAIN, N.; LEITE NETA, M.T.S.; Tempo de destilação e perfil volátil do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolia*) em Sergipe. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.16, n.2, p.243-249, 2014.

OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G.; SANTOS, R.B.; REIS, F.O.; MATSUMOTO, S.T.; BISPO, W.M.S.; MACHADO, L.P.; OLIVEIRA, L.F.M. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolia* Raddi) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.15, n.1, p.150-157, 2013.

ROSSA, U.B; ANGELO, A.C; WESTPHALEN, D.J; OLIVEIRA, F.E.M; SILVA, F.F; ARAUJO, J.C. Fertilizante de liberação lenta no desenvolvimento de mudas de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (angico-vermelho) e *Schinus terebinthifolia* Raddi (aroeira-vermelha). **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 841-852, 2015.

RUAS, F. G. **Seleção de genótipos, manejo e perfil químico de aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) no Estado do Espírito Santo**. 2016, 142f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.

VARMING, C.; PETERSEN, M.A.; POLL, L. Comparison of isolation methods for the determination of important aroma compounds in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice, using nasal impact frequency profiling. **J. Agric Food Chem**, v. 52, n.6, p. 1647-1652, 2004.

SALEM, M.Z.N; EL-HEFNY, M; ALI, H.M; ELANSARY, H.O; NASSER, R.A; EL-SETTAWY, A.A; EL SHANHOERY, N; ASHMAWY, N.A; SALEM, A.Z.M. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolia* ripened fruits against some pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, 2018.

SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A; BUENO, M.; CRIPPA, L. Ban. SARTORI, C.V; DELLACASSA, E; MOYNAS, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolia* Raddi, Anacardiaceae,

do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia- Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.2, p.154-159, 2010.

SANTOS, B.C.B. **Fitoquímica e ensaios biológicos de óleos essenciais de *Pimentapseudocaryophyllus* e *Hedychium coronarium* da Mata Atlântica do Estado de São Paulo**. 2010. 92f.Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SAVORANI, F; TOMASI, G., ENGELSEN, S.B. icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. **Journal of Magnetic Resonance**. v.202, p. 190–202, 2010.

SCHIMITBERGER, V.M.B; PRATTI, D.L.A; CAVALCANTI, L.C; RAMALHO, V.F; COSTA, A.P.F; SCHERER, R; KUSTER, R.M; RAMOS, A.C; SILVA, A.G. Volatile compounds profile changes from unripe to ripe fruits of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **Industrial Crops & products**. v.199, p. 125-131, 2018.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVIK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2010.

SOUTO, A.L. **Análise metabolômica de *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr.** 2015, 132f.Tese (Doutorado em Produtos naturais e sintéticos bioativos) Programa de Pós-Graduação em Produtos naturais e sintéticos bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

WOLFENDER, J.; MARTI, G.; QUEIROZ, E.F. Advances in techniques for profiling crude extracts and for the rapid identification of natural products: dereplication, quality control and metabolomics, **Current Organic Chemistry**, v.14. p. 1808-1832, 2010.

XIE, W.Q; YU, K.X; GONG, Y.X. A double sealing technique for increasing the precision of headspace-gas chromatographic analysis. **Journal of chromatography A**. v. 1533, p.221-225, 2018.

YULIANA, N.D.; KHATIB, A; VERPOORTE, R; Metabolomics for bioactivity assessment of natural products. **Phytotherapy Research**. v.25, p.157-169, 2011.

## 5 CAPÍTULO 2.

### ANÁLISE DOS QUIMIOTIPOS DOS DIFERENTES GENÓTIPOS DE *S. terebinthifolia*

#### RESUMO

Nesse estudo foram realizadas análises quimiométricas nos genótipos dos frutos da espécie *Schinus terebinthifolia*, com o intuito de conhecer a similaridade quimiotaxionômica dos genótipos através dos quimiotipos, possibilitando padrão comercial de qualidade dos frutos e plantas. A partir dos componentes extraídos através do equipamento HS-GC-MS, foram realizadas análises estatísticas não-supervisionadas pela ferramenta PCA (Análise dos Componentes Principais). A análise por PCA resultou no agrupamento e na identificação dos três genótipos com características distintas. Diversos compostos majoritários foram identificados nas espécies analisadas, destacando-se: Germacreno-D; limoneno; p-cimeno;  $\alpha$ -felandreno;  $\alpha$ -Pineno;  $\beta$ -Cariofileno;  $\beta$ -felandreno;  $\beta$ -mirceno;  $\delta$ -3-careno. Dessa maneira, as análises realizadas através da técnica HS-GC-MS, em conjunto com a análise estatística multivariada (quimiometria), auxiliaram no esclarecimento da classificação taxonômica em frutos dos genótipos de *S. terebinthifolia*, otimizando o processo de identificação, devido a rapidez da análise, sendo potenciais marcadores dos quimiotipos.

**Palavras-chave:** *headspace* • PCA • Quimiotipo •

## 6.1 INTRODUÇÃO

A quimiometria é um ramo da química que utiliza programas de computadores no tratamento de dados, afim de realizar aplicações de métodos estatísticos em dados químicos, esta área é destinada a analisar os dados químicos de natureza multivariada, usando recursos relacionados à matemática e estatística, otimizando a obtenção de informações (FERREIRA, 1999). Entre as vertentes da quimiometria destaca-se o reconhecimento de padrões, área da análise multivariada de dados. O reconhecimento de padrões promove a discriminação e seleção em amostras de acordo com suas similaridades. Esses padrões estão relacionados com a identidade de uma amostra e com suas características químicas (CORREIA; FERREIRA, 2007).

O conjunto de dados é representado por um gráfico que auxilia na interpretação dos resultados. Um dos métodos relacionados com a representação gráfica é a análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Componentes Analysis*), que se destaca por utilizar o método não supervisionado, em que não há suposição inicial sobre a estrutura de dados, formando agrupamentos naturais (LAVINE, 2000).

A PCA é utilizado quando os dados apresentam grande quantidade de variáveis, sendo difícil a identificação das principais informações da amostra. Assim, essa análise possui a finalidade de reduzir o tamanho da matriz do conjunto de dados, onde há grande número de variáveis que estão inter-relacionadas (FERREIRA, 2015).

Segundo Martucci e colaboradores (2014), os perfis metabólicos em conjunto com as análises multivariadas, como a PCA, podem ser usados na análise rápida e mais abrangente para os fins quimiotaxionômicos, possibilitando realizar as análises dos quimiotipos- de acordo com as substâncias químicas majoritárias, detectadas nos organismos.

No caso da aroeira, os componentes principais das amostras podem estar relacionados com a composição química do óleo essencial, que são constituintes complexos e podem variar conforme as mudanças do ambiente e do genótipo (GOBBO-NETO, LOPES; RUAS, 2016). O conhecimento da

composição volátil está relacionado com a associação de ferramentas sensoriais que visam selecionar os compostos importantes dos frutos, podendo assim descrever sua qualidade. Dessa forma, esse processo auxilia na seleção de genótipos, bem como no manejo pós-colheita, podendo ser associadas a experiências do mercado.

A análise *headspace*, acoplada ao GC-MS (Cromatografia gasosa – Espectrometria de massas, do inglês *Mass Spectrometry*), compreende em uma rápida análise dos componentes presentes na fase gasosa em equilíbrio sobre a amostra. Esse método tem sido aplicado afim de possibilitar uma melhor representação da amostra, caracterizando adequadamente os compostos voláteis em diversos frutos (FRANCO; JAZANTTI, 2004).

Dessa forma, visando aprimorar a classificação dos genótipos de aroeira e os estádios de maturação dos frutos, a ferramenta PCA foi utilizada afim de agrupar os quimiotipos, através dos constituintes químicos do metabolismo das plantas, por meio da análise HS-GC-MS, que se destaca por ser um método analítico mais sensível, rápido e seletivo. A determinação dos quimiotipos de aroeira visa o estudo dos dados químicos com o intuito de solucionar os problemas de natureza botânica, analisando organismos parecidos morfológicamente, mas com a estrutura química diferenciada, principalmente em óleo essencial (VIANNA, 2009).

Desse modo, utilizar os resultados HS-GC-MS para análise quimiométrica para determinar os quimiotipos é de grande importância para o produtor e melhoristas, bem como para a indústria que visa padrões de qualidade dos produtos. Assim, os objetivos da presente pesquisa foram: realizar análises químicas através do HS-GC-MS para determinar a composição molecular dos frutos dos genótipos BAAr 05; BAAr 08-C; BAAr 23, no quinto estágio de maturação; obter o perfil químico cromatográfico do óleo essencial dos frutos dos genótipos selecionados; promover análise quimiométrica multivariada dos componentes principais através da PCA, afim de agrupar os genótipos de acordo com a composição química; e realizar análise exploratória de dados da composição química dos voláteis para verificar se há similaridade entre os genótipos.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Material vegetal

Neste estudo foram utilizados frutos dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C, BAAr 23 de *Schinus terebinthifolia*. Exsicatas da espécie encontram-se depositadas no Herbário VIES, da Universidade Federal do Espírito Santo, com o registro no *Index Herbariorum* (catálogo mundial sob a coordenação do Jardim Botânico de Nova York) devidamente catalogado e registrado sob o número do tomo: 39056; 39057; 39058; 39059;39060; 39061; 39062; 39063; 39064; 39065 e 39066.

Os genótipos foram produzidos pelo INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural), na Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde, localizada em Jucuruaba, no município de Viana, Espírito Santo, Brasil (LAT: -20°.42'30"83; LON 40°.47'68"33). Os frutos foram coletados no período da manhã, no dia 01 de junho de 2017. Os frutos do genótipo BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23 foram colhidos no estágio quatro (fruto maduro) e cinco (fruto vermelho intenso).

As amostras foram embaladas em sacos de polietileno e depositadas em caixa de polímero de estireno. Após a coleta, os frutos foram transportados para o LabPetro - localizado no Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo - para realizar o processo de separação uniforme do quinto estágio de maturação, os frutos foram colhidos e selecionados segundo a cor da casca e ausência de defeitos.

Posteriormente, as amostras foram armazenadas no *ultrafreezer* (-80°C). O material foi conservado para permitir que as análises bioquímicas subsequentes fossem desenvolvidas paulatinamente. O delineamento experimental das amostras foi inteiramente casualizado, com três repetições.

## 5.2.2 Análise química dos frutos

### 5.2.2.1 Análise do óleo essencial

Para identificar os compostos voláteis, 0,5g dos frutos de *S. terebinthifolia* foram triturados com 1,5g de Sílica em gel 70-230 mesh. Após esse processo, as amostras foram depositadas em tubos e incubadas no equipamento HS-GC-MS e para emissão dos dados cromatográficos. Posteriormente, os dados das amostras foram adquiridos através do programa *GS-Postrum*. Os dados foram organizados em tabela do *Excel* e submetidos ao Laboratório de Quimiometria da Universidade Federal do Espírito Santo.

### 5.2.2.2 Identificação dos compostos voláteis

Por intermédio do programa *GC PostRun analysis* do sistema acoplado ao cromatógrafo gasoso (GC-2010 Plus) - da marca SHIMADZU - e espectrômetro de massas (QP2010), foram obtidos dados relativos a tempos de retenção e área relativa dos sinais cromatográficos, bem como espectros de massas de cada substância, os quais foram comparados àqueles existentes na plataforma da *NIST (National Institute of Standard and Technology)*, a qual contém inúmeros espectros de massas de moléculas conhecidas. Tal comparação permite se calcular o índice de similaridade para possível identificação do composto estudado.

### 5.2.4 Métodos de análise multivariada: PCA

Os resultados dos compostos voláteis foram submetidos a uma análise exploratória dos dados aplicando a PCA, para possibilitar a visualização da correlação entre as variáveis e os possíveis agrupamentos entre as amostras, através do programa estatístico *Matlab*, versão 7.12.0 (*MathWorks Inc. Natick, MA*).



#### 5.2.4.1 Construção de modelos quimiométricos

Para a aplicação da análise de componentes principais, os dados obtidos foram organizados através do programa *Excel*. Foi aplicada a PCA na matriz de dados pré-tratados, composta pelas amostras e variáveis.

A construção dos modelos foi realizada em quatro etapas principais: 1) Pré-processamento com alinhamento de base; 2) Pré-processamento com alinhamento dos picos; 3) Pré-processamento com dados centrados na média; 4) Construção e avaliação dos modelos.

#### 5.2.4.2 Pré-processamento dos dados

Os cromatogramas foram submetidos ao alinhamento de base com algoritmo *air-PLS* (do inglês *Adaptative Iteratively Reweighted- penalized least squares*), que corresponde a um algoritmo de ajuste da linha de base. Sendo um meio rápido e flexível, esse procedimento é executado de forma iterativa para aproximar gradualmente uma linha de base complexa. Os picos foram alinhados com o método de correlação por intervalos *Icohift* (do inglês *interval-correlation-shifting*) que desloca intervalos de cada espectro para a direita ou para a esquerda com o intuito de obter correlação máxima em relação à média espectral naquele intervalo; assim, dois picos correspondentes passam a coincidir entre todos os espectros (SAVORANI; TOMASI; ENGELSEN, 2010). O cromatograma foi configurado com 50 intervalos de espaços iguais pelo tempo de retenção, e nesses intervalos os picos foram alinhados tendo como alvo um cromatograma médio. Além disso, os dados foram submetidos à análise através do discriminante de Fisher. Além disso, os dados foram centrados na média.

O alinhamento em uma das regiões do espectro, onde nota-se que os picos antes desalinhados se tornam sobrepostos após o procedimento (Figura 17).

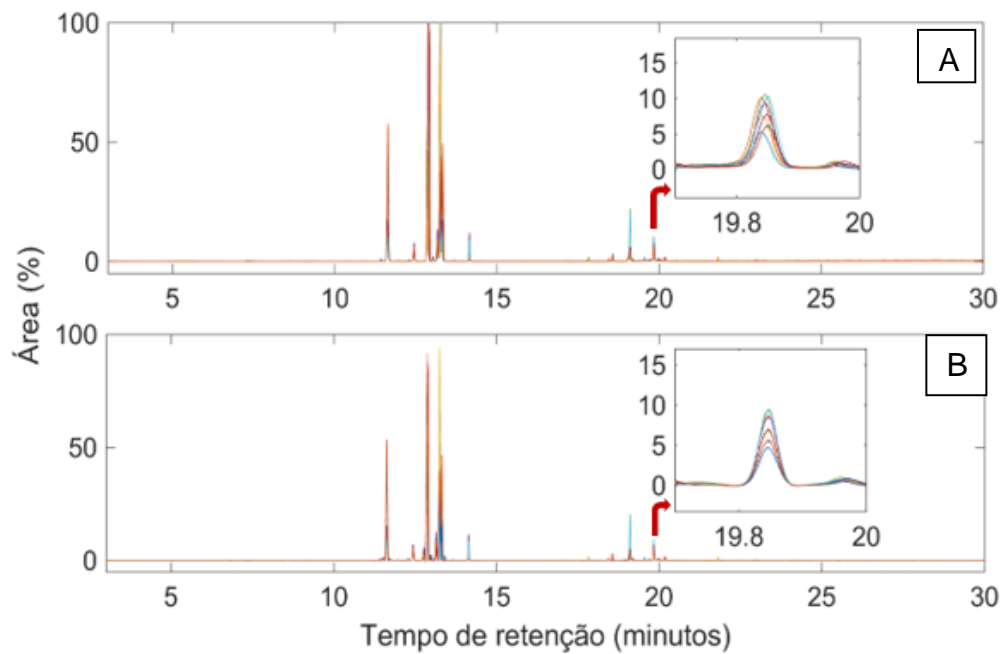


Figura 17 - Picos desalinhados, antes do processo (A), e sobrepostos, após o procedimento (B).

## 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.3.1 Análise de variância dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23

Os resultados da análise de componentes foram responsáveis por 99,75% da variação nos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23. O primeiro componente principal (CP1) apresentou-se responsável por explicar 86,61% da variação, enquanto o segundo componente principal (CP2) apresentou-se responsável por 10,14% da variação (Figura 18).

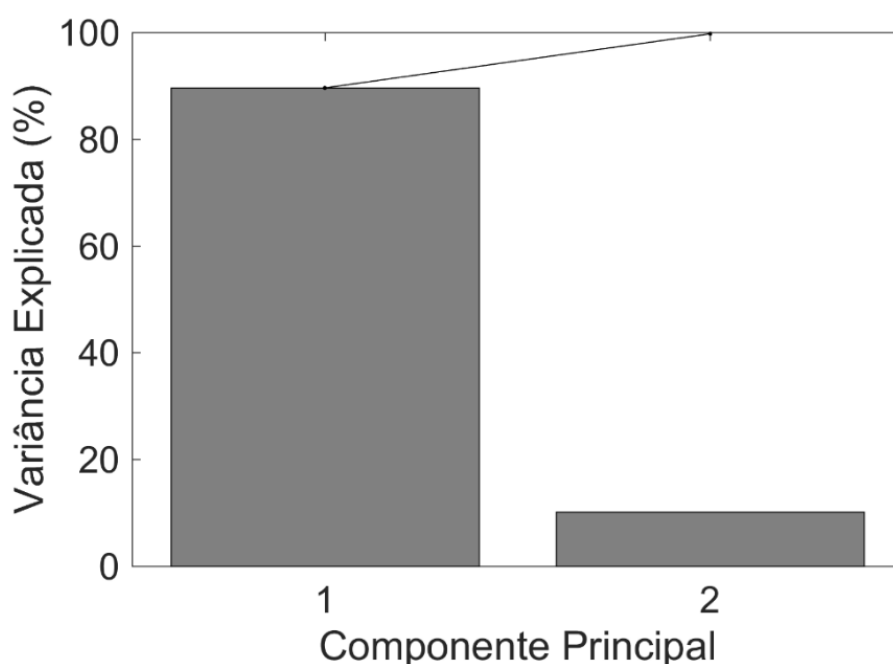


Figura 18 - Variância dos genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23, no quarto e quinto estágio de maturação

### 5. 3.2 Identificação dos componentes principais

Os componentes químicos dos frutos dos genótipos de *S. terebinthifolia* foram identificados com auxílio da plataforma *NIST*. Nos frutos do genótipo BAAr 05 foram identificados nove componentes (Figura 19) no quarto e quinto estágio de maturação dos frutos:  $\alpha$ -Pinoeno;  $\beta$ -mirceno;  $\alpha$ -felandreno; p-cimeno; limoneno;  $\beta$ -felandreno;  $\delta$ -3-careno;  $\beta$ -Cariofileno; germacreno-D (Tabela 05).

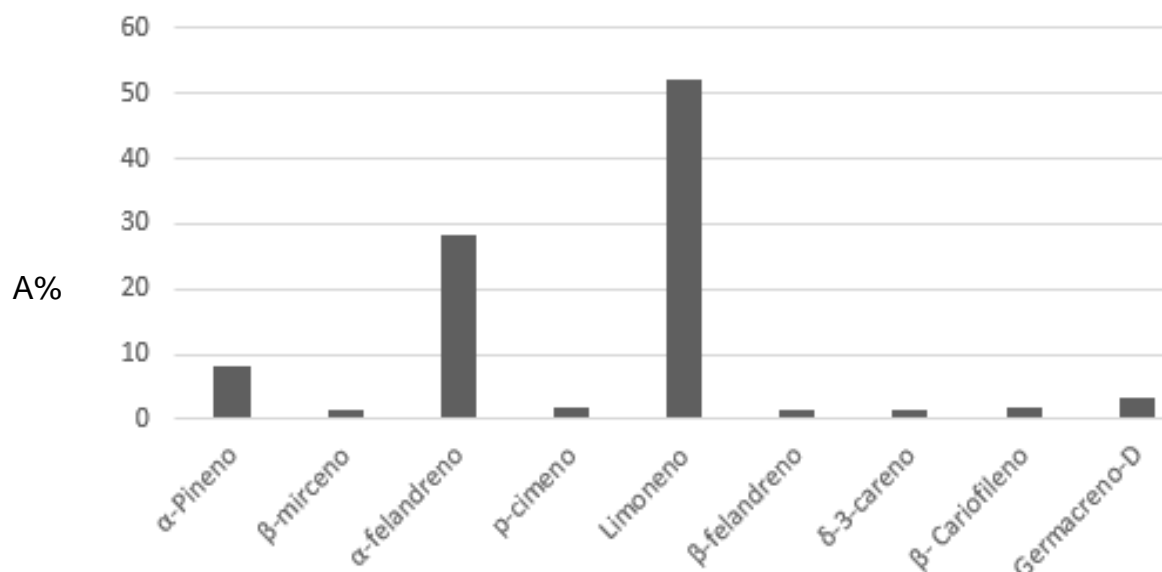


Figura 19 - Componentes do óleo essencial do genótipo BAAR 05.

Tabela 05 - Genótipo BAAR 05, no quinto estágio de maturação

Pico	TR	A %	Componente	IS	Referência
1	11.618	8,21	α-Pineno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
2	12.439	1,59	β-mirceno	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
3	12.860	28,55	α-felandreno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
4	13.156	1,98	p-cimeno	94	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
5	13.252	52,21	Limoneno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014
6	13.311	1,31	β-felandreno	90	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
7	14.146	1,52	δ-3-careno	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
8	19.093	1,7	β- Cariofileno	91	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
9	19.842	3,16	Germacreno-D	90	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.

Nas amostras dos frutos do genótipo BAAR 08-C – no quinto estágio de maturação – foram identificados 15 componentes, representando 98,48% (Figura 20): α-Pineno; β-mirceno; γ-terpineno; δ-3-careno; p-cimeno; limoneno; β-felandreno; γ-terpineno, α-Copaeno; β-Cariofileno; β-Copaeno; α-humuleno; germacreno-D; β-guaieno; α-Copaeno (Tabela 06).

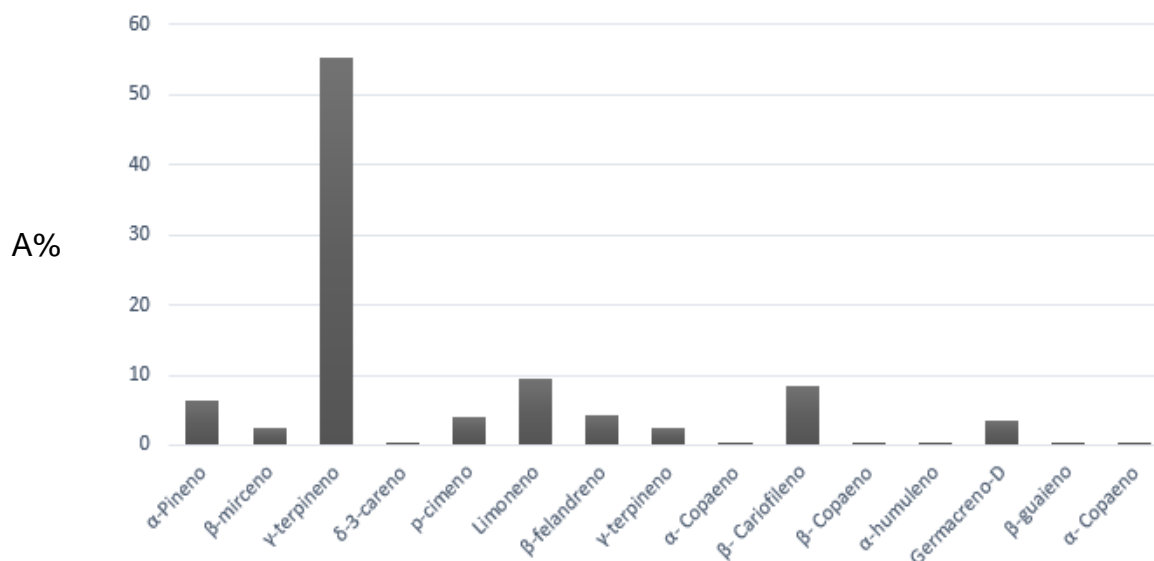


Figura 20 - Componentes do óleo essencial do genótipo BAAr 08-C

Tabela 06 – Genótipo BAAr 08-C, no quinto estágio de maturação.

Pico	TR	A %	Componente	IS	Referência
1	11.622	5,96	α-Pineno	96	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
2	12.447	2,44	β-mirceno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
3	12.894	55,18	γ-terpineno	82	Ibraim, 2010; Clemente, 2006.
4	13.033	0,5	δ-3-careno	94	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
5	13.163	4,03	p-cimeno	94	Ennigrou et al.,2016; Clemente, 2006.
6	13.251	9,50	Limoneno	92	Schimitberger et al., 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014.
7	13.313	4,33	β-felandreno	96	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
8	13.996	2,58	γ-terpineno	94	Ennigrou,et al.,2016; Cole, 2008; Clemente,2006.
9	18.457	0,32	α- Copaeno	95	Ennigrou et al., 2016; Andrade; Poncelet; Ferreira, 2017.
10	19.112	8,57	β- Cariofileno	94	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013
11	19.194	0,42	β- Copaeno	93	Ennigrou, et al., 2016
12	19.556	0,49	α-humuleno	95	Ennigrou, et al.,2016; Schimitberger et al., 2018.
13	19.849	3,51	germacreno-D	92	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015.
14	19.864	0,21	β-guaieno	89	Andrade; Poncelet; Ferreira, 2017; Clemente, 2006
15	20.184	0,44	α- Copaeno	88	Ennigrou, et al., 2016; Andrade; Poncelet; Ferreira, 2017

Os frutos do quinto estágio de maturação do genótipo BAAr 23apresentaram 14 componentes (Figura 21), entre eles: α-Pineno; β-mirceno; α-felandreno; p-

cimeno; limoneno;  $\beta$ -felandreno; $\delta$ -3-careno;  $\beta$ -Copaeno;  $\delta$ -elemeno;  $\beta$ -Cariofileno;  $\gamma$ -muuroleno;  $\alpha$ -selineno;  $\beta$ -guaiano;  $\delta$ -Cadineno (Tabela 07).

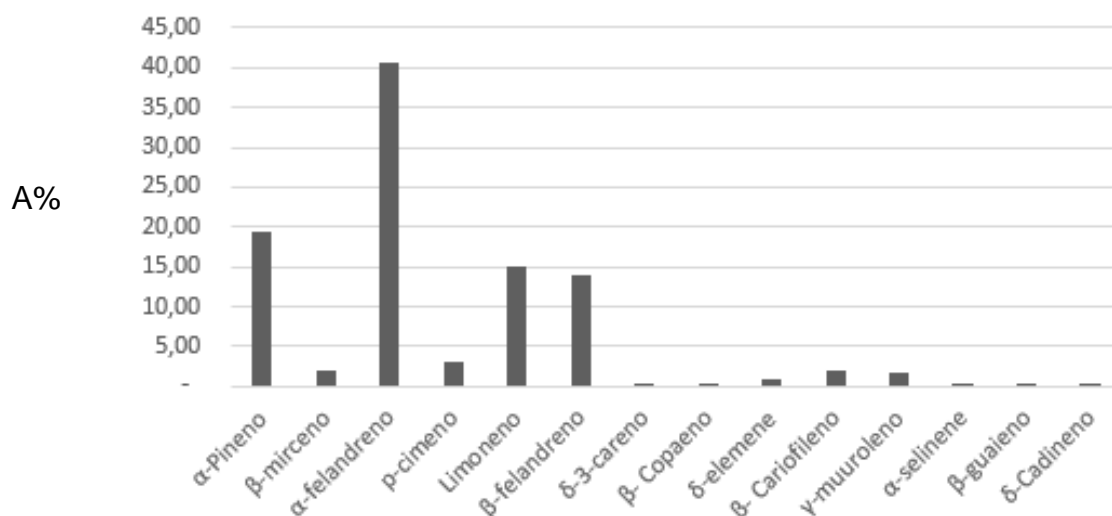


Figura 21- Componentes do óleo essencial do genótipo BAAr 23

Tabela 07 - Genótipo BAAr 23, no quinto estágio de maturação.

Pico	TR	A %	Componente	IS	Referência
1	11.630	19,93	$\alpha$ -Pineno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
2	12.444	1,92	$\beta$ -mirceno	95	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014.
3	12.896	40,56	$\alpha$ -felandreno	84	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Santana et al., 2012.
4	13.161	3,06	p-cimeno	94	Ennigrou et al., 2016; Bendaound et al., 2010.
5	13.268	15,03	Limoneno	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Cole et., 2014; Carvalho et al., 2013.
6	13.331	13,85	$\beta$ -felandreno	92	Ennigrou et al., 2016; Cole et., 2014; Bendaound et al., 2010.
7	14.151	0,24	$\delta$ -3-careno	93	Schimitberger et al 2018; Ennigrou et al., 2016; Barbosa et al., 2007.
8	18.463	0,26	$\beta$ -Copaeno	93	Ennigrou et al., 2016
9	18.576	0,78	$\delta$ -elemeno	94	Ennigrou et al.,2016; Schimitberger et al 2018.
10	19.111	1,84	$\beta$ -Cariofileno	90	Ennigrou et al., 2016; Cavalcanti et al., 2015; Oliveira-Junior et al., 2013.
11	19.856	1,81	$\gamma$ -muuroleno	91	Ennigrou et al., 2017, Andrade; Poncelet; Ferreira, 2017, Cole et., 2014
12	19.978	0,19	$\alpha$ -selineno	89	Ennigrou et al., 2016, Cole et., 2014;
13	20.041	0,19	$\beta$ -guaiano	89	Andrade; Poncelet; Ferreira, 2017
14	20.188	0,4	$\delta$ -Cadineno	90	Ennigrou et al., 2017; Schimitberger et al 2018, Cole et., 2014

Os genótipos BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23 possuem diferenças significativas, entretanto, os genótipos BAAr 08-C e BAAr 23 apresentam elementos

majoritários similares com o BAAr 05. Enquanto, o genótipo BAAr 08-C dispõem de elementos majoritários similares com BAAr 05 e BAAr 23, apresentando dois elementos peculiares:  $\gamma$ -terpineno e  $\alpha$ -humuleno. Entretanto, BAAr 23 apresenta componentes químicos similares ao BAAr 05 e BAAr 08-C, mas possuem substâncias peculiares como:  $\gamma$ -muuroleno;  $\alpha$ -selinene;  $\delta$ -elemene e  $\delta$ -Cadineno.

### 5.3.3 Agrupamento dos componentes principais

A análise de agrupamentos indica que os genótipos dos frutos da espécie *S. terebinthifolia* são distintos entre si. Assim, com base nas análises relacionadas com o quimiotipo, foi possível classificar as amostras conforme o genótipo, através dos resultados obtidos por PCA, visto que essa análise envolve o agrupamento dos componentes químicos similares (Figura22).

Verificou-se, ainda, que as análises de agrupamento também estão relacionadas a um padrão dos componentes químicos em cada genótipo. Evidenciando que a PCA auxilia no processo de separação de quimiotipos dos genótipos.

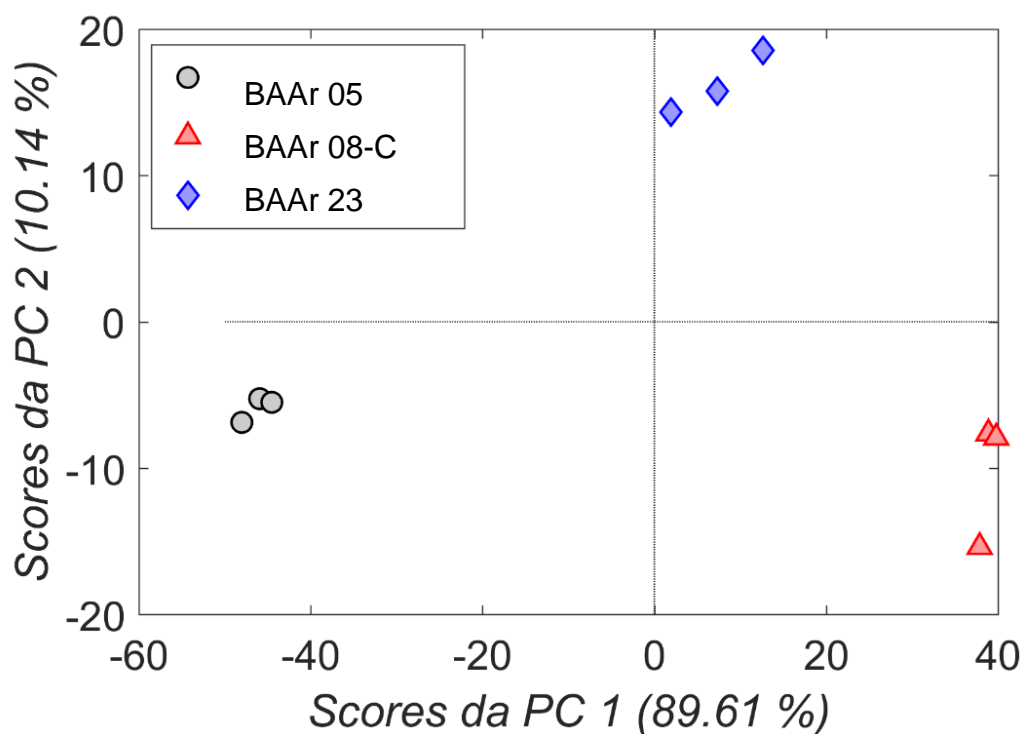


Figura22- Representação gráfica do agrupamento de scores de três genótipos de aroeira.

A aplicação das análises quimiométricas vem demonstrando grande potencial ao ser realizada em conjunto com as análises dos quimiotipos (MARTUCCI et al., 2014; COX et al., 2014). Esses resultados podem ser incluídos em estudos botânicos com o intuito de separar os genótipos (TAVARES et al., 2004; VIANNA, 2009). Assim, essa técnica pode ser uma boa alternativa para avaliação rápida para a identificação dos genótipos com base nos seus componentes químicos, completando as análises moleculares com DNA (Ácido Desoxirribonucleico), que apresentam maior demora nos processos de amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida de sequenciamento e eletroforese (BAREA; PARDINI; GUSHIKEN, 2004). De acordo com Warshauer e colaboradores (2012), o processo de sequenciamento de DNA é demorado, caro, pode conter artefatos, e se torna limitado ao quantificar a mistura das amostras. Os resultados do método HS-GC-MS, associado com as análises multivariadas de PCA, podem ser aplicados nas análises de quimiotipos com o intuito de auxiliar nas classificações de qualidade do óleo essencial exigido pelo mercado.



#### 5.4 CONCLUSÃO

As análises estatísticas multivariadas pelo método não-supervisionado de análise dos Componentes Principais (PCA), realizadas a partir do perfil químico dos frutos dos genótipos: BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23, da espécie *S.terebinthifolia*, indicaram que é possível estabelecer uma separação entre os genótipos de acordo com os componentes químicos. Assim, os resultados da PCA demonstraram dispersão dos genótipos, indicando que há tendência de formação de grupos, sendo possível realizar a classificação e identificação dos quimiotipos. Dessa forma, os componentes voláteis de *S.terebinthifolia* através da técnica HS-GC-MS significa promover otimização do tempo e baixo custo no processo de extração. Além disso, com o uso dessa técnica foi possível proporcionar a identificação dos genótipos de acordo com as diferenças e semelhanças das composições bioquímicas, realizando assim o processo de quimiotipo.

Os dados obtidos demonstraram que além da interferência dos fatores bióticos e abióticos, as variações genotípicas também estão relacionadas em promover as diferenças na composição do óleo essencial dos frutos de *S.terebinthifolia*, visto que os genótipos estavam mantidos sob a mesma condição ambiental.

## 6.5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, K.S; PONCELET, D; FERREIRA, S.R.S. Sustainable extraction and encapsulation of pink pepper oil. **Journal of food engineering**, p. 1-8, 2017.

BAREA, J.A; PARDINI. M.I.M.C; GUSHIKEN, T. Extração de DNA de materiais de arquivo e fontes escassas para utilização em reação de polimerização em cadeia (PCR). **Rev. bras. hematol. Hemoter**, p. 274-281, 2004.

BENDAOU, H., ROMDHANE, M., SOUCHARD, J.P., CAZAUX, S., BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolia* Raddi berries essential oils. **J. Food Sci.** v.75, n.6, p. 466-472, 2010.

BRERETON, R.G. Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. **John Wiley & Sons**, New York, 2003.

COLE, E.R. **Estudo Fitoquímico do Óleo Essencial dos Frutos da Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e sua Eficiência no Combate ao Dengue.** 2008. 82f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v.30, n.2, p.481-487, 2007.

COX, D.G; OH, J; KEASLING. A; COLSON, K; HAMANN, M. The Utility of Metabolomics in Natural Product and Biomarker Characterization. **Biochim Biophys Acta.** 2015.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações.** UNICAMP, São Paulo, 2015.

FERREIRA, M.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v.22, p.724-731, 1999.

FRANCO, M.R.B., JAZANTTI, N.S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M.R.B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais.** São Paulo: Livraria Varela, p. 17-28, 2004.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

LAVINE, B. K. Chemometrics. **Anal. Chem.** v.72, p.91-97, 2000.

MARTUCCI, M.E.P., DE VOS, R.C.H.; CAROLLO, C.A; GOBBO-NETO, L. Metabolomics as a potential chemotaxonomical Tool: Application in the *Genus vernonia* Schreb. **Plos One**, v.9, n.4, 2014.

RUAS, F. G. Seleção de genótipos, manejo e perfil químico de aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi.) no Estado do Espírito Santo. **Dissertação de mestrado em Biologia Vegetal**, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2016.

SAVORANI, F; TOMASI, G., ENGELSEN, S.B. icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. **Journal of Magnetic Resonance**, v.202, p. 190–202, 2010.

TAVARES, E.S; JULIÃO, L.S; LOPES, D; BIZZO, H.R; LAGE, C.L.S; LEITÃO. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmagnosia**, v. 15, n.1, 2005.

VIANNA, J.S. **Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* L.** 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

WARSHAUER, H.D; KING, J.; EISENBERG, A.J; BUDOWLE, B. Validation of the PLEX-ID™ mass spectrometry mitochondrial DNA assay. **Int J Legal Med**, v. 127, p. 277–286, 2013.

## 7 CONCLUSÕES GERAIS

A presente pesquisa possibilitou verificar que as características de qualidade dos frutos estão diretamente relacionadas com o genótipo e ao estágio de maturação no momento da colheita. À vista disso, a espécie *S. terebinthifolia* apresenta grande plasticidade ecológica. Por essa razão, sugere-se o uso dos clones da espécie, afim de obter o padrão de qualidade do óleo essencial.

Analisando-se a variação no rendimento do óleo essencial durante a hidrodestilação, através do aparato de Clevenger, observou-se maior quantidade no estágio 04 (vermelho), com o rendimento de 3,76%, diferente dos estádios anteriores que apresentaram 2,12% para o estágio 1 (verde), e 2,57% para os estádios intermediários (fruto verde-rosado). Assim, quanto ao ponto de colheita, é possível sugerir ao produtor a coleta no quarto estágio de maturação, devido ao rendimento do óleo essencial. Com relação aos componentes químicos majoritários, não houve diferença entre os cinco estádios de maturação do genótipo BAAr 05.

As análises pelo equipamento HS-GC-MS demonstraram alta potencialidade no estudo de óleos essenciais, apresentando otimização e rapidez no processo de identificação dos componentes químicos do óleo essencial. Juntamente com as análises estatísticas multivariadas pela ferramenta PCA foi possível traçar o perfil químico das amostras, devido ao agrupamento dos genótipos.

Assim, foi possível realizar a análise dos quimiotipos dos genótipos, visto que os componentes químicos dos frutos dos genótipos: BAAr 05, BAAr 08-C e BAAr 23 diferem entre si. Portanto, recomenda-se a técnica HS-GC-MS na classificação e identificação quimiotaxômica através dos quimiotipos.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, M. M. R. de; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi): Ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, n. 2, p. 95-102, 2003.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. rev. atual. Viçosa: UFV, 2006.

AZEVEDO, C.F; QUIRINO, Z.G.M.; BRUNO, R.L.A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia* Raddi, Anacardiaceae) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.26-35, 2015.

BAKKALI, F.; AVERBECK, F.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46,n.2, p.446–475, 2008.

BASER, K. H. C., BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential oils: Science, technology, and applications**. CRC Press: Taylor & Francis Group. New York, 2010.

BASTOS D.H.M.; FRANCO M.R.B.; DA SILVA M.A.AP.; JANZANTTI N.S.; MARQUES M.O.M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 22, n.2, p. 122-129, 2002.

BENDAOUD, H., ROMDHANE, M., SOUCHARD, J.P., CAZAUX, S., BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolia*Raddi berries essential oils. **J. Food Sci.** v.75, n.6, p. 466-472, 2010.

BERNARDES, N. R; GLÓRIA, L.L.; NUNES, C.R.; PESSANHA, F.F.; MUZITANO, M.F; OLIVEIRA, D.B. Quantificação dos teores de taninos e fenóis totais e avaliação da atividade antioxidante dos frutos de aroeira. **VÉRTICES**, v. 13, n. 3, p. 117-128, 2011.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*Raddi)**.2006. 116f.Dissertação(Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Viçosa,Viçosa,2006.

BOROS, L. P. **Ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de folhas da *Schinus terebinthifolia* Raddi (aroeira)**.2007. 85f. Dissertação (Mestradoem Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. Universidade Federal do Paraná, Paraná,2007.

BRERETON, R.G. Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. **John Wiley & Sons**, New York, 2003.

CARVALHO, M.C.R.D.; BARCA, F.N.T.V.; AGNEZ-LIMA.; L.F.; MEDEIROS, S.R.B. Evaluation of Mutagenic Activity in an Extract of Pepper Tree Stem Bark (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 42, n.3, p. 185-191, 2003.

CARVALHO, L.M; COSTA, J.A.M; CARBELOSSI, M.A.G. Qualidade em plantas medicinais. **Documento 162** – EMBRAPA, 2010.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Colombo, DF: Embrapa florestas, v1, 2003.**

CARVALHO, M.G.; MELO, A.G.N.; ARAGÃO, C.F.S.; RAFFIN, F.N.; MOURA, T.F.A.L. *Schinus terebinthifolia* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.1, p.158-169, 2013.

CESÁRIO, L. F.; GAGLIANONE M. C. Biologia floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae) em Restinga do Norte Fluminense. **Acta Botânica Brasilica**, v. 22, n. 3, p. 828-833, 2008.

CEVALLOS-CEVALLOS, J.M.; REYES-DE-CORCUERAA, J.I.; ETXEBERRIAA, E.; DANYLUKA, M.D; RODRICK; G.E. Metabolomic analysis in food science: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 557-566, 2009.

COLE, E.R. **Estudo Fitoquímico do Óleo Essencial dos Frutos da Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e sua Eficiência no Combate ao Dengue.**2008. 82f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

COSTA, E.M.M.B.; BARBOSA, A.S.; ARRUDA, T.A.; OLIVEIRA, P.T.; DAMETTO, F.R.; CARVALHO, R.A.; MELO, M.D. Estudo in vitro da Ação Antimicrobiana de Extrato de Plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica e Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 175–180, 2010.

COX, D.G; OH, J; KEASLING. A; COLSON, K; HAMANN, M. The Utility of Metabolomics in Natural Product and Biomarker Characterization. **Biochim Biophys Acta**, v.1840, n.12, p. 3460-3474, 2015.

DAMATTO JR, E.R.; GOTO, G.; RODRIGUES, D.S.; VIVENTINI, M.; CAMPOS, A.J.D. Qualidade de pimentões amarelos colhidos em dois estádios de maturação. **Eletronica de Agronomia**, v.17, n.1, p.23-30, 2010.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKY, J. N.; dos SANTOS, R.J. Antioxidant activity of extracts from fruits of Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **Visão Acadêmica**, v.5, n.2, p.83-89, 2004.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2.ed. United Kingdom: John Wiley and Sons, 2002.

DUARTE, M.R; TOLEDO, M. G; OLIVEIRA, R.B. Diagnose morfoanatômica de aroeira (*Schinus terebinthifolia* RADDI, Anacardiaceae. **Revista UFPR**. v. 7, n. 2, 2006.

FEDEL-MIYASATO, L. E.S.; KASSUYA, C. A.L; AUHAREK, S. A.; FORMAGIO, A. S.N; CARDOSO, C. A.L.; MAURO, M. O; CUNHA-LAURA, A. L.; MONREALH, A. C.D.; VIEIRA, M. C.; OLIVEIRA, R. J. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolia* methanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24. p. 565-575, 2014.

FERREIRA, M.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I:calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v.22, p.724-731, 1999.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. UNICAMP, São Paulo, 2015.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

GONÇALVES, M.P.M; MAÊDA, J.M; ABREU, H.S; SILVA. S.P; SOUZA, G.R. Propagação Vegetativa da Aroeira (*Schinus terebinthifolia*) por Alporquia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 363-365, 2007.

GORTNER, W. A., DULL, G. G., KRAUSS, B. H. Fruit development, maturation, ripening, and senescence: A biochemical basis for horticultural terminology. **HortScience**, v.2, n.4.p. 141-144,1967.

GROBÉRIO, T.S. **Desenvolvimento de uma metodologia para comparação de amostras de sal de cocaína pela determinação de solventes residuais e análise quimiométrica**.2012. 129f. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, M.L.; RODRIGUEZ, Z.M.; RUBAICABA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolia* Raddi (copal).**Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v.5, n.1, p. 23- 25, 2000.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL- INCAPER.**Aroeira: um nicho de mercado em expansão na economia capixaba**. Texto disponibilizado em 06 julh. 2016. Disponível em:

<<https://incaper.es.gov.br/Not%C3%ADcia/aroeira-um-nicho-de-mercado-em-expansao-na-economia-capixaba>>. Acesso em 29 set. 2016.

JOHANN, S; SÁ, N.P.; LIMA L. A.; CISALPINO, P.S.; COTA, B.B.; ALVES, T.M; SIQUEIRA, E, P; ZANI, C.L. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolia* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, n. 30, p. 1-6, 2010.

JUDD, W. S. CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. DONOGHUE. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**/ tradução: André Olmos Simões et al. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KAFKAS, E.; KAFKAS, S.; KOCH-DEAN, M.; SCHWAB, W.; LARKOV, O.; LAVID, N.; BAR, E.; RAVID, U.; LEWINSOHN, E. Comparison of Methodologies for the Identification of Aroma Compounds in Strawberry. **Turk J Agric For.** v 29. p. 383-390, 2005.

KWEKA, E. J. et al. Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 129, p. 1-10, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Ed. RIMA. 2005

LAVINE, B. K. Chemometrics. **Anal. Chem.** 72, 91-97, 2000.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolia*Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 198-201, 2004a.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolia*Raddi. (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, n. 2, p. 67-89, 2004b.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R.A.; E.O.; FARIAS, N.M.O.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n.02, p.197-201, 2006.

LIMA, M.R.F.; LUNA, J.S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M.C.C.; SANT'ANA, A.E.G.; GENET, J-P.; MARQUEZ, B.; NEVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial Activity of some Brazilian. Medicinal Plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 137–147, 2006.

LOPES, R.E.C; SANTOS, I.P; SOARES, F.L.F; PEREIRA. E.F; BRAGA, J.W.B. Aplicação da análise dos componentes principais (PCA) na identificação de marcas de canetas esferográficas – uma introdução à quimiometria In: **XV ENCONTRO NACIONAL DE ENSINO DE QUÍMICA**, Brasília, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4.ed. v.1. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.



LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

LUCENA, P. L. H.; RIBAS FILHO, J. M.; MAZZA, M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.; COR- REA, M. A. C.; HENRIQUES, G. S.; SAN- TOS, O. J.; CESCIN, P.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos, **Acta Cirúrgica Brasileira**,v.21, n.2, 2006.

MACHADO, S.M; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae). **Acta bot. Bras**, v. 15, n.2, p. 189-195, 2001.

MARTORELLI, S.B.F; PINHEIRO, A.L.B; SOUZA, I.A; HIGINO, J.S; BRAVO, F. Efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Aroeira) a 30% em orabase – estudo “*In vivo*”. **Int J Dent**, v. 10, n.2, p. 80-90, 2011.

MATSUO, A. L.; FIGUEREDO, C.R.; ARRUDA, D.C.; PEREIRA, F.V.; SCUTTI, J.A.B.; MASSAOKA, M.H.; TRAVASSOS, L.R.; SARTORELLI, P.; LAGO, J.H.G.  $\alpha$ -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n.2, p.449-454, 2011.

MENDES, M.P.M.F.; OLIVEIRA, T.K.B.; SARMENTO, D.B.; DO Ó, N.P.R; GADELHA, N.C. *Schinus terebinthifolia* Raddi (Aroeira) e suas propriedades na Medicina Popular. **Revista Verde**, v. 10, n.5, p. 23 - 27, 2015.

MENÉNDEZ, J. C. F., SÁNCHEZ, M. L. F., URÍA, J. E. S., MARTINEZ, E. F., SANZMEDEL, A. Static headspace, solid-phase microextraction and *headspace* solidphase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. **Analytica ChimicaActa**, v.415, p.9-20, 2000.

MILDNER-SZKUDLARZ, S.; JELEN, H. H. The potential of different techniques for volatile compounds analyses coupled with PCA for the detection of adulteration of olive oil with hazelnut oil. **Food Chemistry**, v.110, p.751-761, 2008.

NAVARRO M.; DE SENA V.L.M.; SRIVASTAVA R.M.; NAVARRO D.M. A.F. Atualizando a química orgânica experimental da licenciatura. **Química Nova**, v. 28, n.6, p. 1111-1115, 2005.

NESELLO, M. A.; SERAFINI, L. A.; PAULETTI, G. F. Efeito alelopático do óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* sobre *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa*. **XV Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS**, Caxias do Sul - RS, 2007.

NEVES, E.J.M; SANTOS, A.M; GOMES, J.B.V; RUAS, F.G; VENTURA, J.A. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia*Raddi) para produção de pimenta rosa. Colombo: **Embrapa Florestas**. (Documentos, 294), 2016.

NICOLINI, J. V.; PUGET, F. P.; MAZZA, M. G. G. Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* Raddi (aroeira-vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 2009.

NOGUEIRA, A.C. Comportamento germinativo de aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **XLIX Congresso Nacional de Botânica**, 1998.

OLIVEIRA, D. M. **Estudo Químico e Biológico de Frutos de Plantas de Interesse econômico: *Punica granatum* e *Schinus terebinthifolia***. 2012, 122f. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais)–Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G.; SANTOS, R.B.; REIS, F.O.; MATSUMOTO, S.T.; BISPO, W.M.S.; MACHADO, L.P.; OLIVEIRA, L.F.M. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolia* RADDI) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.1, p.150-157, 2013.

PÉLA, J.J. **Caracterização agrônômica da aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) no município de São Mateus, no Estado do Espírito Santo**. 2013, 74f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

PIRES, O. C.; TAQUEMASA, A. V. C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; ARAÚJO, C. E. P. Análise preliminar da toxicidade aguda e dose letal mediana (DL50) comparativa entre os frutos de Pimenta-do-Reino do Brasil (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e Pimenta do reino (*Piper nigrum* L.). **Acta Farmacêutica Boraense**, v. 23, n. 2, p. 176-182, 2004.

QUEIRES, L.C; FAUVEL-LAFEVE, F.; TERRY, S.; DE LA TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J.C.; CHOPIN, D.K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L.E.A.; CRÉPIN, M. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolia* Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, v.26, n.1, p. 379-387, 2006.

RAVEN, PH; EICHHORN, S. E.; EVERT, R F. **Biologia Vegetal** - 8ª ed: Guanabara Koogan, 2014

RIBAS, M. O; SOUZA, M.H; SARTORETTO, J.; LANZONI, T.A; NORONHA, L.; ACRA, L.A. Efeito da *Schinus terebinthifolia* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, n. 53, p. 245-252, 2006.

ROSAS, E.C; CORREA, L.B; PÁDUA, T.A; COSTA, T.E.M.M; MAZZEI, L.J; HERINGER, A.P; BIZARRO, C.A; KAPLAN, M.A.C; FIGUEREDO, M.R; HENRIQUES, M.G. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolia* Raddi Hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 175. p. 490–498, 2015.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: SA - GRA, 1989.

SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A; BUENO, M.; CRIPPA, L.Ban. SARTORI, C.V; DELLACASSA, E; MOYNAS, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolia* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia- Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.2, p.154-159, 2010.

SANTOS, O. J. JURANDIR; FILHO, M.R; CZECZKO, N. G., NETO, M.L.C.B; JUNIOR, N.C; FERREIRA, L.M; CAMPOS, R. P., MOREIRA, H.; PORCIDES, R, D; DOBROWOLSKI, S. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolia*Raddi) no processo decicatização de gastrorráfias em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n.2, 2006.

SCHEIBE, L.C, RIBAS-FILHO, J.M, CZECZKO, N.G; MALAFAIA, O; BARBOZA, L.E.D; RIBAS, F.M; WENDLER, E; TORRES, O; LOVATO; F.C, SCAPIN, G.S. *Schinus terebinthifolia* raddi (Aroeira) and *Orbignya phalerata* mart. (Babassu) effect in cecorrhaphy healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 31, n.6, 2016.

SERENIKI, A. LINARD-MEDEIROS; SILVA, S.N; SILVA, J.B.R; SOBRINHO, T.J.S.P; SILVA, J.R; ALVES, L.D.S; SMAILI, S.S; WANDERLEY, A.G; LAFAYETTE, S.S.L. *Schinus terebinthifolia* administration prevented behavioral and biochemical alterations in a rotenone model of Parkinson's disease. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v, 26, 2016.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVIK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Editora UFRGS. Porto Alegre, 2010.

SOARES, C.A. **Plantas medicinais: do plantio à colheita**. 1ed. São Paulo: Ícone, 2010.

SOARES, D. G. D. S. Avaliação Clínica e Microbiológica do Tratamento da Estomatite Protética com Tinturade *Schinus terebinthifolia*Raddi (Aroeira). **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 10, n. 3, p. 365-370, 2010.

SOUZA, P. A.; VENTURNI, N.; MACEDO, R. L. G.; ALVARENGA, M. I. N., SILVA, V. F. Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. **Cerne**, v.7, n.2. p.43-52, 2001.

SOUZA, V. C; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG**. 3ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.

SOUZA, R.C., PEREIRA, M.G., GIACOMO, R.G., SILVA, E.M.R., MENEZES, L.F.T. Produção de mudas micorrizadas de *Schinus terebinthifolia* Raddi. em diferentes substratos. **FLORESTA**, v. 39, n. 1, p. 197-206, 2009.

SOUZA, D.C.L; SILVA-MANN, R; FERREIRA, R.A; GOMES, J.L, ALMEIDA, T, S; OLIVEIRA, A.S;PEREIRA, G.S; GOIS, I.B. Produção de frutos e características morfofisiológicas de *Schinus terebinthifolia* Raddi., na região do baixo São Francisco, Brasil. **Revista Árvore**, v.37, n.5, p.923-932, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TANURDZIC, M; BANKS, J.A. Sex-determining mechanisms in land plants. **The Plant Cell**, v. 16, p. 61-71, 2004.

USDA, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **The plants database**. Greensboro:National Plant Data Team. NC 27401-4901 USA. Disponível em:<<https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=SCTE>> Acesso em: 10 março. 2017.

VIEITES, R.L. Qualidade Fisiológica pós-colheita de frutas. Mesa Redonda, XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA EM NATAL – RN, 2010, Natal, **Mesa redonda**, 2010.

ZUZARTE. M., SALGUEIRO, L. Essential oil chemistry. *In*:SOUZA, D.P (Ed.). **Bioactive essential oils and cancer**. Hardcover, 2cap, p. 19-61, 2015.

## 8 APÊNDICES

### APÊNDICE - A Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAr 05 de *S. terebinthifolia*

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	Similaridade
Baar 05-EST 1 - REP 1	1	11.616	7.86	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	96
Baar 05-EST 1 - REP 1	2	12.438	1.48	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 1	3	12.856	32.07	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 1	4	13.144	0.89	p-cimeno	C10H14	93
Baar 05-EST 1 - REP 1	5	13.243	46.45	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 1	6	13.306	2.29	$\beta$ -felandreno	C10H16	89
Baar 05-EST 1 - REP 1	7	14.143	1.54	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 1 - REP 1	8	19.087	2.77	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	88
Baar 05-EST 1 - REP 1	9	19.838	5.24	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 1 - REP 2	1	11.618	8.33	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	96
Baar 05-EST 1 - REP 2	2	12.441	1.52	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 2	3	12.861	32.22	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 2	4	13.147	0.80	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 1 - REP 2	5	13.246	46.07	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 2	6	13.306	1.82	$\beta$ -felandreno	C10H16	90
Baar 05-EST 1 - REP 2	7	14.144	1.46	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 1 - REP 2	8	19.089	2.32	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	88
Baar 05-EST 1 - REP 2	9	19.840	4.82	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 1 - REP 3	1	11.618	8.01	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	96
Baar 05-EST 1 - REP 3	2	12.440	1.54	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 3	3	12.862	33.14	$\alpha$ -felandreno	C10H16	94
Baar 05-EST 1 - REP 3	4	13.158	0.85	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 1 - REP 3	5	13.252	47.94	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 1 - REP 3	6	13.312	1.75	$\beta$ -felandreno	C10H16	88
Baar 05-EST 1 - REP 3	7	17.829	0.45	$\delta$ -3-careno	C10H16	89
Baar 05-EST 1 - REP 3	8	19.090	1.55	$\beta$ - Cariofileno	C15H14	89
Baar 05-EST 1 - REP 3	9	19.841	3.31	Germacreno-D	C15H14	93
Baar 05-EST 2 - REP 1	1	11.502	7.38	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	96
Baar 05-EST 2 - REP 1	2	12.329	1.56	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 1	3	12.752	29.95	$\alpha$ -felandreno	C10H16	94
Baar 05-EST 2 - REP 1	4	13.049	48.85	Limoneno	C10H14	94
Baar 05-EST 2 - REP 1	5	13.142	2.01	$\beta$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 1	6	13.204	1.56	$\delta$ -3-careno	C10H16	88
Baar 05-EST 2 - REP 1	7	14.047	1.83	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 2 - REP 1	8	19.034	2.50	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	89
Baar 05-EST 2 - REP 1	9	19.789	4.36	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 2 - REP 2	1	11.580	8.46	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	96

(Continua)

(Continuação)

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	Similaridade
Baar 05-EST 2 - REP 2	2	12.401	1.64	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 2	3	12.822	33.21	$\alpha$ -felandreno	C10H16	94
Baar 05-EST 2 - REP 2	4	13.209	46.05	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 2	5	13.270	1.64	$\beta$ -felandreno	C10H16	88
Baar 05-EST 2 - REP 2	6	14.110	1.30	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 2 - REP 2	7	17.808	0.68	$\delta$ -3-careno	C10H16	91
Baar 05-EST 2 - REP 2	8	19.066	2.48	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	88
Baar 05-EST 2 - REP 2	9	19.821	4.54	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 2 - REP 3	1	11.616	8.55	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 2 - REP 3	2	12.437	1.59	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 3	3	12.856	33.00	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 3	4	13.240	46.50	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 2 - REP 3	5	13.306	1.66	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 2 - REP 3	6	14.143	1.28	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 2 - REP 3	7	14.296	1.30	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 2 - REP 3	8	19.084	2.76	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	89
Baar 05-EST 2 - REP 3	9	19.836	4.66	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 3 - REP 1	1	11.616	8.55	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 3 - REP 1	2	12.407	1.61	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 1	3	12.829	27.77	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 1	4	13.125	2.71	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 3 - REP 1	5	13.220	51.62	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 1	6	13.279	1.93	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 3 - REP 1	7	14.116	1.21	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 3 - REP 1	8	19.076	1.66	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	89
Baar 05-EST 3 - REP 1	9	19.828	3.41	Germacreno-D	C15H24	90
Baar 05-EST 3 - REP 2	1	11.617	8.09	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 3 - REP 2	2	12.438	1.60	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 2	3	12.858	27.02	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 2	4	13.155	3.26	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 3 - REP 2	5	13.246	51.65	Limoneno	C10H16	94
Baar 05-EST 3 - REP 2	6	13.306	1.81	$\beta$ -felandreno	C10H16	90
Baar 05-EST 3 - REP 2	7	14.145	1.04	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 3 - REP 2	8	19.092	1.88	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	91
Baar 05-EST 3 - REP 2	9	19.841	3.65	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 3 - REP 3	1	11.615	8.85	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 3 - REP 3	2	12.438	1.60	$\beta$ -mirceno	C10H16	94
Baar 05-EST 3 - REP 3	3	12.856	28.32	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 3 - REP 3	4	13.152	2.59	p-cimeno	C10H14	92
Baar 05-EST 3 - REP 3	5	13.244	50.09	Limoneno	C10H16	94
Baar 05-EST 3 - REP 3	6	13.306	1.79	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 3 - REP 3	7	14.143	1.07	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 3 - REP 3	8	19.091	1.87	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	90
Baar 05-EST 3 - REP 3	9	19.841	3.82	Germacreno-D	C15H24	94

(Continuação)

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	Similaridade
Baar 05-EST 4 - REP 1	1	11.621	4.03	$\alpha$ -Pineno	C10H16	95
Baar 05-EST 4 - REP 2	2	12.446	1.68	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 4 - REP 2	3	12.887	31.47	$\alpha$ -felandreno	C10H16	84
Baar 05-EST 4 - REP 1	4	13.171	1.14	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 4 - REP 1	5	13.296	57.89	Limoneno	C10H16	94
Baar 05-EST 4 - REP 3	6	13.359	0.36	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 4 - REP 1	7	14.149	1.85	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 4 - REP 1	8	19.094	0.63	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	92
Baar 05-EST 4 - REP 1	9	19.842	0.96	Germacreno-D	C15H24	90
Baar 05-EST 4 - REP 2	1	11.622	3.92	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 4 - REP 2	2	12.444	1.55	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 4 - REP 2	3	12.877	29.69	$\alpha$ -felandreno	C10H16	91
Baar 05-EST 4 - REP 2	4	13.167	1.17	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 4 - REP 2	5	13.281	60.07	Limoneno	C10H16	91
Baar 05-EST 4 - REP 3	6	13.325	0.38	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 4 - REP 2	7	14.148	1.91	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 4 - REP 2	8	19.093	0.64	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	91
Baar 05-EST 4 - REP 2	9	19.842	1.05	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 05-EST 4 - REP 3	1	11.619	4.37	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 4 - REP 3	2	12.440	1.45	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 4 - REP 3	3	12.868	28.63	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 4 - REP 3	4	13.159	1.14	p-cimeno	C10H14	93
Baar 05-EST 4 - REP 3	5	13.266	59.77	Limoneno	C10H16	96
Baar 05-EST 4 - REP 3	6	13.321	0.34	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 05-EST 4 - REP 3	7	14.147	2.10	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 4 - REP 3	8	19.091	0.79	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	91
Baar 05-EST 4 - REP 3	9	19.842	1.41	Germacreno-D	C15H24	90
Baar 05-EST 5 - REP 1	1	11.619	6.91	$\alpha$ -Pineno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 1	2	12.441	1.57	$\beta$ -mirceno	C10H16	94
Baar 05-EST 5 - REP 1	3	12.864	27.35	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 1	4	13.157	2.25	p-cimeno	C10H14	93
Baar 05-EST 5 - REP 1	5	13.259	56.14	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 1	6	13.315	0.37	$\beta$ -felandreno	C10H16	89
Baar 05-EST 5 - REP 1	7	14.146	1.59	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 05-EST 5 - REP 1	8	19.093	1.17	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	91
Baar 05-EST 5 - REP 1	9	19.841	2.21	Germacreno-D	C15H24	91
Baar 05-EST 5 - REP 2	1	11.616	9.03	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 05-EST 5 - REP 2	2	12.438	1.59	$\beta$ -mirceno	C10H16	94
Baar 05-EST 5 - REP 2	3	12.857	28.66	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 2	4	13.153	1.78	p-cimeno	C10H14	93
Baar 05-EST 5 - REP 2	5	13.245	49.40	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 2	6	13.309	1.81	$\beta$ -felandreno	C10H16	90
Baar 05-EST 5 - REP 2	7	14.145	1.47	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 5 - REP 2	8	19.093	2.17	$\beta$ - Cariofileno	C15H24	91

(Continuação)

<b>Amostra</b>	<b>Pico</b>	<b>TR</b>	<b>A %</b>	<b>Componente</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Similaridade</b>
Baar 05-EST 5 - REP 2	9	19.842	4.09	Germacreno-D	C15H24	90
Baar 05-EST 5 - REP 3	1	11.619	8.69	$\alpha$ -Pinoeno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 3	2	12.439	1.63	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 3	3	12.860	28.44	$\alpha$ -felandreno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 3	4	13.157	1.91	p-cimeno	C10H14	94
Baar 05-EST 5 - REP 3	5	13.251	51.11	Limoneno	C10H16	95
Baar 05-EST 5 - REP 3	6	13.309	1.75	$\beta$ -felandreno	C10H16	93
Baar 05-EST 5 - REP 3	7	14.146	1.52	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 05-EST 5 - REP 3	8	19.092	1.77	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	91
Baar 05-EST 5 - REP 3	9	19.843	3.18	Germacreno-D	C15H24	91



**APÊNDICE - B** Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAR 08-C de *S. terebinthifoliano* quinto estágio de maturação

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	IS
Baar 08-C REP 1	1	11.623	6.48	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 08-C REP 1	2	12.449	2.72	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 08-C REP 1	3	12.914	56.42	$\gamma$ -terpineno	C10H16	80
Baar 08-C REP 1	4	13.035	0.58	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 08-C REP 1	5	13.166	4.17	p-cimeno	C10H16	93
Baar 08-C REP 1	6	13.259	10.50	Limoneno	C10H16	94
Baar 08-C REP 1	7	13.320	4.69	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 08-C REP 1	8	13.686	0.17	$\gamma$ -terpineno	C10H16	96
Baar 08-C REP 1	9	18.454	0.25	$\alpha$ -Copaeno	C10H16	94
Baar 08-C REP 1	10	19.111	6.31	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	95
Baar 08-C REP 1	11	19.192	0.28	$\beta$ -Copaeno	C15H24	93
Baar 08-C REP 1	12	19.554	0.34	$\alpha$ -humuleno	C15H24	95
Baar 08-C REP 1	13	19.848	2.50	Germacreno-D	C15H24	93
Baar 08-C REP 1	14	19.962	0.11	$\beta$ -guaiano	C15H24	89
Baar 08-C REP 1	15	20.182	0.22	$\alpha$ -Copaeno	C15H24	88
Baar 08-C REP 2	1	11.621	6.01	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 08-C REP 2	2	12.443	2.24	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 08-C REP 2	3	12.878	53.29	$\gamma$ -terpineno	C10H16	86
Baar 08-C REP 2	4	13.030	0.42	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 08-C REP 2	5	13.158	4.01	p-cimeno	C10H16	94
Baar 08-C REP 2	6	13.244	8.80	Limoneno	C10H16	95
Baar 08-C REP 2	7	13.306	4.02	$\beta$ -felandreno	C10H16	93
Baar 08-C REP 2	8	14.148	3.91	$\gamma$ -terpineno	C10H16	94
Baar 08-C REP 2	9	18.457	0.39	$\alpha$ -Copaeno	C10H16	93
Baar 08-C REP 2	10	19.110	10.50	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	95
Baar 08-C REP 2	11	19.193	0.54	$\beta$ -Copaeno	C15H24	93
Baar 08-C REP 2	12	19.556	0.62	$\alpha$ -humuleno	C15H24	94
Baar 08-C REP 2	13	19.848	4.27	Germacreno-D	C15H24	94
Baar 08-C REP 2	14	19.963	0.31	$\beta$ -guaiano	C15H24	89
Baar 08-C REP 2	15	20.183	0.67	$\alpha$ -Copaeno	C15H24	88
Baar 08-C REP 3	1	11.624	5.40	$\alpha$ -Pineno	C10H16	97
Baar 08-C REP 3	2	12.449	2.38	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 08-C REP 3	3	12.892	55.83	$\gamma$ -terpineno	C10H16	82
Baar 08-C REP 3	4	13.034	0.51	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 08-C REP 3	5	13.164	3.92	p-cimeno	C10H16	94
Baar 08-C REP 3	6	13.251	9.22	Limoneno	C10H16	95
Baar 08-C REP 3	7	13.314	4.28	$\beta$ -felandreno	C10H16	93
Baar 08-C REP 3	8	14.153	3.68	$\gamma$ -terpineno	C10H16	94
Baar 08-C REP 3	9	18.461	0.32	$\alpha$ -Copaeno	C10H16	93
Baar 08-C REP 3	10	19.115	8.91	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	95
Baar 08-C REP 3	11	19.196	0.44	$\beta$ -Copaeno	C15H24	94
Baar 08-C REP 3	12	19.559	0.51	$\alpha$ -humuleno	C15H24	95
Baar 08-C REP 3	13	19.852	3.76	Germacreno-D	C15H24	91
Baar 08-C REP 3	14	19.666	0.21	$\beta$ -guaiano	C15H24	89
Baar 08-C REP 3	15	20.187	0.43	$\alpha$ -Copaeno	C15H24	88

**APÊNDICE - C** Componentes do óleo essencial dos frutos do genótipo BAAR23 de *S. terebinthifoliano* quinto estágio de maturação

Amostra	Pico	TR	A %	Componente	Fórmula	IS
Baar 23 REP 1	1	11.631	19.81	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 23 REP 1	2	12.446	1.83	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 23 REP 1	3	12.884	39.83	$\alpha$ -felandreno	C10H16	87
Baar 23 REP 1	4	13.164	3.11	p-cimeno	C10H14	95
Baar 23 REP 1	5	13.258	14.59	Limoneno	C10H16	94
Baar 23 REP 1	6	13.323	13.42	$\beta$ -felandreno	C10H16	93
Baar 23 REP 1	7	14.150	0.25	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 23 REP 1	8	18.463	0.34	$\beta$ -Copaeno	C15H24	93
Baar 23 REP 1	9	18.575	0.97	$\delta$ -elemene	C15H24	92
Baar 23 REP 1	10	19.109	2.38	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	94
Baar 23 REP 1	11	19.851	2.34	$\gamma$ -muuroleno	C15H24	90
Baar 23 REP 1	12	19.977	0.28	$\alpha$ -selinene	C15H24	91
Baar 23 REP 1	13	20.043	0.28	$\beta$ -guaieno	C15H24	89
Baar 23 REP 1	14	20.187	0.57	$\delta$ -Cadineno	C15H24	92
Baar 23 REP 2	1	11636	18.98	$\alpha$ -Pineno	C10H16	96
Baar 23 REP 2	2	12448	1.95	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 23 REP 2	3	12895	41.08	$\alpha$ -felandreno	C10H16	81
Baar 23 REP 2	4	13169	3.10	p-cimeno	C10H14	95
Baar 23 REP 2	5	13269	15.31	Limoneno	C10H16	93
Baar 23 REP 2	6	13332	14.12	$\beta$ -felandreno	C10H16	92
Baar 23 REP 2	7	14151	0.24	$\delta$ -3-careno	C10H16	93
Baar 23 REP 2	8	18463	0.24	$\beta$ -Copaeno	C15H24	93
Baar 23 REP 2	9	18576	0.71	$\delta$ -elemene	C15H24	95
Baar 23 REP 2	10	19110	1.66	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	94
Baar 23 REP 2	11	19852	1.62	$\gamma$ -muuroleno	C15H24	90
Baar 23 REP 2	12	19977	0.16	$\alpha$ -selinene	C15H24	91
Baar 23 REP 2	13	20041	0.17	$\beta$ -guaieno	C15H24	89
Baar 23 REP 2	14	20188	0.35	$\delta$ -Cadineno	C15H24	89
Baar 23 REP 3	1	11.639	20.10	$\alpha$ -Pineno	C10H16	95
Baar 23 REP 3	2	12.449	1.99	$\beta$ -mirceno	C10H16	95
Baar 23 REP 3	3	12.901	40.77	$\alpha$ -felandreno	C10H16	84
Baar 23 REP 3	4	13.171	2.98	p-cimeno	C10H14	94
Baar 23 REP 3	5	13.272	15.21	Limoneno	C10H16	93
Baar 23 REP 3	6	13.336	14.01	$\beta$ -felandreno	C10H16	91
Baar 23 REP 3	7	14.152	0.23	$\delta$ -3-careno	C10H16	94
Baar 23 REP 3	8	18.464	0.21	$\beta$ -Copaeno	C15H24	93
Baar 23 REP 3	9	18.576	0.65	$\delta$ -elemene	C15H24	96
Baar 23 REP 3	10	19.110	1.48	$\beta$ -Cariofileno	C15H24	93
Baar 23 REP 3	11	19.851	1.47	$\gamma$ -muuroleno	C15H24	90
Baar 23 REP 3	12	19.979	0.14	$\alpha$ -selinene	C15H24	91
Baar 23 REP 3	13	20.038	0.14	$\beta$ -guaieno	C15H24	89
Baar 23 REP 3	14	20.189	0.30	$\delta$ -Cadineno	C15H24	90