

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a partir
de 21/02/2020.

JÚLIO CÉSAR RODRIGUES LOPES SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ANÁLISE SENSORIAL DE CHÁS,
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA
GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL ABRANGENTE DE CLONES SELECIONADOS
DE *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br QUIMIOTIPO CITRAL**

Botucatu

2019

JÚLIO CÉSAR RODRIGUES LOPES SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ANÁLISE SENSORIAL DE CHÁS,
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA
GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL ABRANGENTE DE CLONES SELECIONADOS
DE *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br QUIMIOTIPO CITRAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Horticultura).

Orientadora: Marcia Ortiz Mayo Marques

Botucatu

2019

S586p

Silva, Júlio César Rodrigues Lopes

Produção de biomassa, análise sensorial de chás, caracterização química do óleo essencial por cromatografia gasosa uni e bidimensional abrangente de clones ... / Júlio César Rodrigues Lopes Silva. -- Botucatu, 2019

84 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Márcia Ortiz Mayo Marques

1. Erva-cidreira. 2. Metabolismo especializado. 3. Perfil sensorial. 4. Cromatografia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **“PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ANÁLISE SENSORIAL DE CHÁS, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL ABRANGENTE DE CLONES SELECIONADOS DE *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. QUIMIOTIPO CITRAL”**

AUTOR: JÚLIO CÉSAR RODRIGUES LOPES SILVA

ORIENTADORA: MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Dr.^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agrônômico de Campinas



Prof.^a Dr.^a BEATRIZ HELENA LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA

Química / Universidade Federal do Paraná



Prof. Dr. FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 21 de fevereiro de 2019.

*A minha mãe e avó,
Flávia e Inês, inspirações da minha.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e permitir chegar até aqui.

A minha mãe e avó que são as inspirações da minha vida. Duas guerreiras, que mesmo diante das dificuldades não mediram esforços para que eu pudesse chegar onde cheguei. Espero um dia poder retribuir tudo que fizeram por mim.

Aos meus irmãos Pedro Arthur e Yan que sempre me apoiaram e incentivaram.

A todos meus familiares que acreditaram em mim.

A faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, pelo suporte e oportunidade de realizar o mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa.

Ao Instituto Agrônomo (IAC) por disponibilizar a área para realização do experimento.

Ao pesquisador Dr. Leandro Wang Hantao, do Instituto de Química da Unicamp, por todo suporte e colaboração nas análises cromatográficas e por suas contribuições científicas. Aprofundar nessa área foi um desafio, mas extremamente gratificante.

A Dra. Roselaine Facanali por compor a banca de qualificação e ajuda na interpretação dos dados químicos.

A pesquisadora Dra. Aline de Oliveira Garcia do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, que gentilmente nos recebeu em seu laboratório e auxiliou na condução das análises sensoriais.

A Nathália Godoy por toda ajuda e suporte na execução e interpretação dos dados da análise sensorial.

Ao Dr. Walter José Siqueira, um dos mentores desse trabalho e a quem sou extremamente grato. O amor que você tem pela pesquisa é admirável e incentivador. Obrigado por se fazer presente e contribuir para minha formação. Te admiro e me espelho em você como profissional.

Agradeço a minha orientadora, Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques, pelos ensinamentos paciência, amizade e por sua presença e dedicação em todas as etapas do projeto. Além disso, obrigado se preocupar com meu bem-estar pessoal e profissional.

Ao professor Filipe Pereira Giardini Bonfim, por suas contribuições na banca de qualificação e de defesa, bem como por me receber em seu grupo de pesquisa no meu primeiro ano de mestrado, onde fiz amizades incríveis.

A Professora Beatriz Helena Lameira de Noronha Sales Maia por aceitar o convite de compor a banca de defesa e por suas contribuições.

Aos meus amigos de Sabará, em especial Raíssa, Aline e Carol, amigas de longa data e que tenho imenso carinho.

A “colega” Isabella pelos longos anos de amizade. Desde a graduação trilhamos os mesmos caminhos e por isso tivemos a oportunidade de acompanhar o amadurecimento profissional e pessoal um do outro. Sou grato e feliz por Deus ter te colocado na minha vida.

Aos amigos de Botucatu da pós-graduação, Hilbaty, Daniela, Nathália, Suellen, Ricardo, Luiza, Raíra, Silvia, Geane e Mirella.

Aos amigos do laboratório de Fitoquímica do IAC, Dani, Leticia Jordany, Guilherme, Dayane e Ana pelos momentos de descontração, conversas e saídas a Sergel para refrescar a mente.

Um agradecimento em especial à amiga Jordany Aparecida por suas contribuições científicas na condução desse trabalho, e principalmente por sua amizade, e posicionamento calmo e sensato perante as dificuldades da vida. Apesar de nos conhecermos a pouco tempo te tenho como uma irmã que a vida me deu. Obrigado por me revelar aspectos sobre mim que eu não sabia, e por me mostrar que existe um mundo inteiro a ser descoberto e vida além das paredes do laboratório.

As amigas Paula, Laura, Karoline, Thaíse, Amanda e Emanuelle, que mesmo à distância se fizeram presentes e que são peças fundamentais na minha vida.

Aos amigos do alojamento do IAC, Cinthia, Gabriela, Gustavo, Rafael, Fernando, pela convivência, conversas e por tornarem os dias mais leves.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na execução desse trabalho. Foram muitas pessoas, que se fosse listar teria que escrever outra dissertação. Mas a todos vocês o meu muito obrigado!

“Eu faço da dificuldade a minha motivação. A volta por cima vem a continuação. O que se leva dessa vida é o que vive é o que se faz”.

Charlie Brown Júnior

RESUMO

Lippia alba (Mill.) N.E.Br, pertencente à família Verbenaceae é uma planta medicinal amplamente distribuída na América do Sul. A composição química do óleo essencial da espécie, a qual derivam suas propriedades terapêuticas mostra-se variável, com divisão em quimiotipos. Entre eles, o quimiotipo citral destaca-se pelas ações calmante e ansiolítica, sendo suas folhas empregadas na medicina popular na forma de chá. Dessa forma, visando o potencial uso econômico de *Lippia alba*, este estudo teve como objetivos avaliar clones de *Lippia alba* do quimiotipo citral quanto a produtividade de biomassa e óleo essencial, perfil sensorial do chá e composição química do óleo essencial pelas técnicas de cromatografia gasosa unidimensional (CG) e bidimensional abrangente (CG×CG). Entre os clones, dois mostraram-se promissores para inserção em sistemas de produção, com foco em maior produção de biomassa e óleo essencial. Os perfis químicos dos óleos essenciais dos clones são variáveis entre si. O emprego do sistema CG×CG resultou em maior capacidade de detecção dos constituintes dos óleos essenciais. Ao todo foram identificadas 47 substâncias por CG×CG, contra 26 no CG. A maior sensibilidade e resolução fazem do sistema CG×CG uma importante ferramenta metabolômica no estudo dos constituintes voláteis de *Lippia alba*. Os clones X6M?C e X6M7 se destacaram quanto as características sensoriais de aroma e sabor, com potencial de inclusão na indústria alimentícia na forma de chá.

Palavras-chave: Erva-cidreira. Metabolismo especializado. Perfil sensorial. Cromatografia.

ABSTRACT

Lippia alba (Mill.) N.E.Br, from the Verbanaceae family is a medicinal plant widely distributed in the South America. The species's essential oil chemical composition, which derives its therapeutic properties, shows itself as variable, with division in chemotypes. Among them, the citral chemotype highlights itself for the soothing and anxiolytic actions, being its leaves used in the popular medicine in the form of tea. Thus, aiming the potential economic use of the *Lippia alba*, this work has as objectives evaluate the clones of the citral chemotype of *Lippia alba* in terms of productivity of biomass and essential oil, sensorial profile and chemical composition of the essential oil by using the one-dimensional gas Chromatography (CG) and comprehensive two-dimensional gas chromatography(CGxCG). Among the clone, two stood out as promising to insertion in production systems, with focus on a bigger production of biomass and essential oil. The chemical profiles of the clones's essential oil are variable among themselves. The use of the CGxCG system have resulted in a bigger capacity of identification of the essential oils constituents. Altogether, 47 substances have been identified by CGxCG, against 26 in CG. The better sensibility and resolution are part of the CGxCG, an important metabolomics tool of the volatile constituents of *Lippia alba*. The X6M7C e X6M7 clones stood out in terms of sensorial features of flavor, with potential of inclusion in the food industry in the form of tea.

Keywords: Erva-cidreira. Specialized metabolism. Sensory profile. Chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1 -	Croqui da disposição dos blocos na área experimental.....	34
Figura 2 -	Croqui da disposição das plantas dentro da parcela experimental.....	35
Figura 3 -	Gráfico tridimensional (3D) da análise de componentes principais, em função da composição química do óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s, submetidos a dois cortes de produção.....	46
Figura 4 -	Gráfico de <i>score</i> (A) e <i>loadings</i> (B) das componentes principais 1 e 2 em função da composição química do óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s, referentes a dois cortes de produção.....	47
Figura 5 -	Gráfico de <i>score</i> das componentes principais 1 e 3 em função da composição química do óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s referentes a dois cortes de produção.....	48
Figura 6 -	Gráfico de <i>loadings</i> das substâncias α -bulneseno, exo-isocitral e sabineno de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s, referentes a dois cortes de produção.....	49
Figura 7 -	Análise de agrupamentos hierárquicos de acordo com a distância euclidiana de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s referentes a dois cortes de produção.....	50
Figura 8 -	Mapa de calor (<i>heatmap</i>) com base na composição química do óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratu</i> s referentes a dois cortes de produção.....	51
Figura 9 -	Análise de componentes principais de acordo com o aroma e sabor de amostras de chá de clones de <i>Lippia alba</i> e amostras comerciais (A e B) e cultivada de <i>C.citratu</i> s.....	53

Figura 10 - Percentual (%) referente ao posicionamento dos consumidores quanto ao questionamento: O aroma e sabor da amostra se assemelham aos dos chás de consumo?	54
---	----

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Mapa de calor (<i>heatmap</i>) com base na composição química do óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratus</i> referentes a dois cortes de produção.....	71
---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 -	Atributos químicos e físicos do solo da área experimental.....	33
Tabela 2 -	Dados climáticos referentes ao período de avaliação do experimento.....	35
Tabela 3 -	Resumo da análise de variância dos parâmetros: matéria fresca foliar (MFF); matéria seca foliar (MSF) eficiência foliar (EF); rendimento de óleo essencial (RO) e produtividade de óleo essencial.ha ⁻¹ (POE), referentes ao 1º e 2º corte de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral.....	39
Tabela 4 -	Valores de matéria fresca foliar (MFF); matéria seca foliar (MSF); eficiência foliar (EF); rendimento de óleo essencial (RO) e produtividade de óleo essencial.ha ⁻¹ (POE) referentes ao 1º e 2º corte de clones selecionados do quimiotipo citral de <i>Lippia alba</i>	40
Tabela 5 -	Composição química média (%) dos óleos essenciais de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral e <i>C.citratius</i> referentes a dois cortes de produção.....	43
Tabela 6 -	Matriz de co-ocorrência de amostras de chá de clones do quimiotipo citral de <i>Lippia alba</i> e amostras comerciais e cultivada de <i>C.citratius</i>	52

CAPÍTULO 2

Tabela 1 -	Composição química média (%) dos óleos essenciais de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral, analisados por CG-EM e CGxCG –EM.....	68
------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAH	Análise de Agrupamentos Hierárquicos
Anava	Análise de variância
ACP	Análise de Componente Principais
CG	Cromatografia gasosa
CG-DIC	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chamas
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas
CG×CG	Cromatografia gasosa bidimensional
CG×CG -	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à
EM	espectrometria de massas
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
IAC	Instituto Agrônômico
Ital	Instituto de Tecnologia de Alimentos
Nist	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	23
CAPÍTULO 1 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA, PERFIL SENSORIAL DO CHÁ E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CLONES SELECIONADOS DE <i>Lippia alba</i> DO QUIMIOTIPO CITRAL.....	27
1.1 INTRODUÇÃO.....	31
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
1.2.1 Determinação de matéria fresca e seca.....	36
1.2.2 Eficiência foliar.....	36
1.2.3 Extração de óleo essencial.....	36
1.2.4 Composição química do óleo essencial.....	37
1.2.5 Análise sensorial.....	37
1.2.6 Análise dos dados.....	38
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
1.3.1 Biomassa, eficiência foliar, rendimento e produtividade de óleo essencial de clones de <i>Lippia alba</i> do quimiotipo citral.....	39
1.3.2 Composição química do óleo essencial.....	42
1.3.3 Análise sensorial.....	51
1.4 CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	57
CAPÍTULO 2 - PERFIL SENSORIAL DO CHÁ E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CLONES SELECIONADOS DO QUIMIOTIPO CITRAL DE <i>Lippia alba</i> POR CROMATOGRÁFICA GASOSA UNIDIMENSIONAL (CG) E BIDIMENSIONAL ABRANGENTE (CG×CG)	59
2.1 INTRODUÇÃO.....	63
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.2.1 Extração do óleo essencial.....	65
2.2.2 Análise por CG-EM.....	65

2.2.3	Análise por CG-DIC.....	66
2.2.4	Análise por CG×CG –EM.....	66
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
2.4	CONCLUSÃO.....	73
	REFERÊNCIAS	75
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS UNI (1D) E BIDMENSIONAL (2D) DO ÓLEO ESSENCIAL DE CLONES DE <i>Lippia alba</i> do QUIMIOTIPO CITRAL	81

ABSTRACT

Lippia alba is a medicinal plant, native to South America. In Brazil, it is popularly used in the form of tea, due to its soothing and anxiolytic properties, these being attribute to the citral (mixture of neral and geranial), substance present in the essential oil of the citral chemotype. However, exotic species used to the same purpose, the show Them selves more comprehensive in regards of commercialization, such as *Cymbopogon citratus*, commercialized species in the form of tea and essential oil rich in citral. One of the main reasons for this situation, runs from the lack of information about the establishment of productive chains. Thus, aiming the potential economic utilization of *Lippia alba*, the main objective of this work was to evaluate the productivity of biomass and essential oil, as well as the chemical profile of essential oils, and the sensorial profile of the tea made from the clones of the citral chemotype. The experiment was conducted in randomized block design, being two cuts evaluted. The treatments consisted of four clones of the citral chemotype of *Lippia alba*, plus one additional treatment referent to the *Cymbopogon citratus* species, used in this case only with purposes of comparison of the chemical composition and the sensory profile of the tea. The results that have been achieved with respect to the production of biomass and essential oil indicate that the X6M7 and X6M33 clones are promising for insertion in the productivity systems due to the larger production of biomass and essential oil. In the chemical profile of the essential oil, one can verify that they are citral as the major substance, the clones, as well as the *C.citratus*, differing from the other identified substances, being different among themselves, but similar in the two cut that have been performed. The phenotypes variations in both the biomass production and the essential oil chemical composition indicate genetic variability intraspecific of the *Lippia alba* species, within the same chemotype. Regarding the sensory characteristics of the tea, it is observed que the X6M?C clone , despite the good results of acceptance by the consumers, is among the less productives clones in terms of biomass and essential oil, unlike the X6M7, that presented good results both in production and perception of the evaluators due to the flavor of the tea.

Keywords: Erva-cidreira. Specialized metabolismo. Flavor.

1.4 CONCLUSÃO

Os clones de *Lippia alba* quimiotipo citral avaliados apresentam variações fenotípicas, tanto em relação à produtividade de biomassa, quanto à produtividade e composição química de óleo essencial. Os clones X6M33 e X6M7 se destacaram devido maior produção de biomassa, bem como produção de óleo essencial. Em relação ao perfil químico, os clones diferem entre si, bem como em relação ao *C.citratu*s, apesar de apresentarem o citral (mistura de neral e geranial) como principal constituinte químico, sendo entre os clones, o X6M7 o mais divergente.

Em termos sensoriais os chás apresentam variações quanto ao aroma e sabor. Foram observadas diferenças sensoriais entre os clones e destes com as amostras de *C.citratu*s comerciais e cultivada. De acordo com as características de aroma e sabor, os clones X6M?C e X6M7 apresentam potencial de aplicação na indústria alimentícia na forma de chá.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. **Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy**. Academic press, 2017.
- ADDINSOFT, S. A. R. L. XLSTAT software, version 9.0. **Addinsoft, Paris, France**, 2010.
- ALCANTARA, M. De; FREITAS-SÁ, D. D. G. C. Metodologias sensoriais descritivas mais rápidas e versáteis, uma atualidade na ciência sensorial. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 21, p. 1-12, 2018.
- BARRIENTOS, Juan Carlos et al. Potencial económico de cuatro especies aromáticas promisorias para producir aceites esenciales en Colombia. 2012.
- BLANK, Arie Fitzgerald et al. Chemical diversity in *Lippia alba* (Mill.) NE brown germplasm. **The Scientific World Journal**, 2015.
- Food Agriculture Organization (FAO), 2018. World tea production and trade. current and future development. Disponível em <www.fao.org/news/story/en/item/1136255/icode/> Acesso em 20 de setembro de 2018.
- GILBERT, Benjamin. **Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimadas**. Abifito, 2005.
- GOMES, Angélica Ferraz et al. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food chemistry**, v. 273, p. 186-193, 2019.
- JANNUZZI, H. et al. Avaliação agronômica e química de dezessete acessos de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) NE Brown]-quimiotipo citral, cultivados no Distrito Federal. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 3, p. 258-264, 2011.
- JANNUZZI, Hermes et al. Avaliação agronômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 412-417, 2010.
- LAWLESS, Harry T.; HEYMANN, Hildegard. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. Springer Science & Business Media, 2010.
- MARENCO, Ricardo Antonio et al. Fisiologia de espécies florestais da Amazônia: fotossíntese, respiração e relações hídricas. **Ceres**, v. 61, n. 7, 2015.
- MONTOYA, José Omar Cardona; FLÓREZ, Jaime Eduardo Muñoz. Phytochemical variability between Colombian accessions of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, v. 7, n. 2, 2016.

- NUNES, Michael Ramos et al. Antioxidant and antimicrobial methylcellulose films containing *Lippia alba* extract and silver nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 192, p. 37-43, 2018.
- OMBITO, Japheth Omollo et al. A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (Verbenaceae family). **J Sci Innov Res**, v. 3, n. 4, p. 460-466, 2014.
- REIS, Aryane C. et al. *Lippia alba* (Verbenaceae): A new tropical autoploid complex?. **American journal of botany**, v. 101, n. 6, p. 1002-1012, 2014.
- SALIMENA, Fátima Regina; MÚLGURA, Maria Ema. Notas taxonômicas em Verbenaceae J. St. Hil. do Brasil. **Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 66, n. 1, p. 191-197, 2015.
- SANTOS, Maurício RA; INNECCO, Renato. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 182-185, 2004.
- SCHOCKEN, NATALIE REGINA LEOZ. Obtenção de quimiotipos híbridos de *Lippia alba* (Mill) NE Brown. **Campinas, SP**, v. 82, 2007.
- SILVA, N. A. et al. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) NE Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.
- STASHENKO, Elena E. et al. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil CG-MS and principal component analysis. **Journal of separation science**, v. 33, n. 1, p. 93-103, 2010.
- STONE, Herbert et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Descriptive Sensory Analysis in Practice**, p. 23-34, 2004.
- TEIXEIRA DE OLIVEIRA, Graziela et al. Phytochemical characterisation and bioprospection for antibacterial and antioxidant activities of *Lippia alba* Brown ex Britton & Wilson (Verbenaceae). **Natural product research**, v. 32, n. 6, p. 723-731, 2018.
- TIMÓTEO, Patrícia et al. A validated HPLC method for the analysis of herbal teas from three chemotypes of Brazilian *Lippia alba*. **Food chemistry**, v. 175, p. 366-373, 2015.
- VAN DEN DOOL, H. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Jornal Chromatography. A**, v. 11, p. 463-471, 1963.
- XIA, Jianguo et al. MetaboAnalyst 3.0—making metabolomics more meaningful. **Nucleic acids research**, v. 43, n. W1, p. W251-W257, 2015.

ABSTRACT

Lippia alba, from the Verbenaceae is a medicinal species consecrated for its popular use in the form of tea, due to its soothing and anxiolytic actions. These properties are commonly attributed to the essential oil present in its leaves, rich in citral (mix of neral and geranial). Despite the fact that the therapeutic actions of the species are related to the major substances, the action potential, as well as the sensorial characteristics of the tea, derive from the chemical profile of the essential oil, represented by the set of metabolites present in the environment. Thus, for the understanding of the properties observed for the species, it is necessary to use techniques with greater capacity for separation and detection of essential oil substances. In this context, the objective of the study was to evaluate the chemical composition of the essential oil of clones of *Lippia alba* of the citral chemotype by one-dimensional gas chromatography (CG) and two-dimensional comprehensive gas Chromatography (CG×CG). 47 substances were identified by CG×CG e 26 by CG. Although the neral and geranial present as major substances, the clones evaluated differ in the chemical profile of the essential oil, mainly due to the substances present in smaller percentages. The information obtained through CG×CG provided a greater capacity of detection of the metabolites of the essential oils regarding the CG, constituting an important tool in the metabolomic study of the volatile constituents of the species.

Keywords: Erva-cidreira. Chemical profile. GC×GC

2.4 CONCLUSÃO

Os clones de *Lippia alba* se diferem quanto ao perfil químico dos óleos essenciais, em especial em relação às substâncias presentes em menores abundâncias relativas. A técnica bidimensional abrangente (CG×CG) em comparação ao unidimensional (CG) apresentou maior capacidade de separação e detecção dos metabólitos dos óleos essenciais, sendo uma importante ferramenta metabolômica para a avaliação dos constituintes voláteis do metabolismo especializado da espécie.

REFERÊNCIAS

ADAMS, Robert P. **Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy**. Academic press, 2017.

BÉNARD, Marc et al. Association between time perspective and organic food consumption in a large sample of adults. **Nutrition journal**, v. 17, n. 1, p. 1, 2018.

DITLEVSEN, Kia; SANOE, Peter; LASSEN, Jesper. Healthy food is nutritious, but organic food is healthy because it is pure: The negotiation of healthy food choices by Danish consumers of organic food. **Food Quality and Preference**, v. 71, p. 46-53, 2019.

DONSI, Francesco; FERRARI, Giovanna. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of biotechnology**, v. 233, p. 106-120, 2016.

ACREE, T.; ARN, Heinrich. Flavornet. **DATU, Inc., Geneva, NY. Disponível em :[http://www. flavornet. Org](http://www.flavornet.Org)**. Acesso em 02 de janeiro de 2018.

KEPPLER, Emily A. Higgins et al. Advances in the application of comprehensive two-dimensional gas chromatography in metabolomics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2018.

MEINERT, Cornelia; MEIERHENRICH, Uwe J. A New Dimension in Separation Science: Comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 42, p. 10460-10470, 2012.

RAUT, Jayant Shankar; KARUPPAYIL, Sankunny Mohan. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

SANTOS, Anaí L. et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (CG× CG/TOFMS) for the analysis of volatile compounds in *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. essential oils. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 242-251, 2015.

SANTOS, Thalita G. et al. Characterization of the essential oils of two species of Piperaceae by one-and two-dimensional chromatographic techniques with quadrupole mass spectrometric detection. **Microchemical Journal**, v. 115, p. 113-120, 2014.

SOUSA, D. G. et al. Essential oil of *Lippia alba* and its main constituent citral block the excitability of rat sciatic nerves. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 8, p. 697-702, 2015.

SOUZA, Carine F. Souza et al. Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 21-34, 2018.

STRACZYNSKI, Grzegorz; LIGOR, Tomasz. Comprehensive Gas Chromatography: Food and Metabolomics Applications. **Critical reviews in analytical chemistry**, v. 48, n. 3, p. 176-185, 2018.

TRANCHIDA, Peter Q. et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: recent evolution and current trends. **Mass spectrometry reviews**, v. 35, n. 4, p. 524-534, 2016.

TRANCHIDA, Peter Q.; FRANCHINA, Flavio A.; MONDELLO, Luigi. Analysis of essential oils through comprehensive two-dimensional gas chromatography: General utility. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 32, n. 4, p. 218-227, 2017.

VAN DEN DOOL, H. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

WONG, Yong Foo; PERLMUTTER, Patrick; MARRIOTT, Philip J. Untargeted metabolic profiling of Eucalyptus spp. leaf oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography with high resolution mass spectrometry: Expanding the metabolic coverage. **Metabolomics**, v. 13, n. 5, p. 46, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesse trabalho evidenciaram que apesar dos clones avaliados possuírem os mesmos compostos majoritários (neral e geranial), se diferem quanto a produtividade de biomassa e óleo essencial, bem como em relação ao perfil químico do óleo essencial. As variações observadas estão relacionadas a fatores genéticos, uma vez que todos os clones foram cultivados sob as mesmas condições ambientais.

Os clones de *Lippia alba* e a espécie *C.citratus* apresentam variações entre si quanto a composição química do óleo essencial, apesar de todos apresentarem o citral (neral e geranial) como composto majoritário, sendo entre os clones o X6M7 o mais divergente. Dessa forma, diferentes potenciais de ação podem ser encontrados de acordo com a espécie, bem como dos genótipos de *Lippia alba*.

Os clones X6M?C e X6M7 se destacaram com melhores resultados sensoriais, em termos de aroma e sabor, indicando potencial de aplicação na indústria alimentícia na forma de chá. Entretanto ao relacionar os dados de produção de biomassa com as características sensoriais, observa-se que o clone X6M?C apesar dos bons resultados de aceitação por parte dos consumidores em relação ao chá, está entre os clones menos produtivos em termos de biomassa e óleo essencial ao contrário do X6M7, que apresentou bons resultados para esses parâmetros, quanto em relação à percepção dos avaliadores em função do aroma e sabor do chá.

A utilização da técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente (CG×CG) acentuou as diferenças entre os clones de *Lippia alba*, devido a melhor resolução obtida na separação de substâncias coeluídas. As variações observadas referem-se principalmente às substâncias presentes em menores percentuais, cuja maioria foi observada apenas via CG×CG. Em função da maior da maior capacidade de cobertura metabólica, o emprego do sistema de cromatografia gasosa bidimensional abrangente constitui como importante ferramenta metabólica no estudo de voláteis do metabolismo especializado da espécie *Lippia alba*.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, Guilherme L. et al. Optimizing loop-type cryogenic modulation in comprehensive two-dimensional gas chromatography using time-variable combination of the dual-stage jets for analysis of crude oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1536, p. 82-87, 2018.

BÉNARD, Marc et al. Association between time perspective and organic food consumption in a large sample of adults. **Nutrition journal**, v. 17, n. 1, p. 1, 2018.

BLANK, Arie Fitzgerald et al. Chemical diversity in *Lippia alba* (Mill.) NE brown germplasm. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

CORDERO, Chiara et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography and food sensory properties: potential and challenges. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 407, n. 1, p. 169-191, 2015.

DITLEVSEN, Kia; SANOE, Peter; LASSEN, Jesper. Healthy food is nutritious, but organic food is healthy because it is pure: The negotiation of healthy food choices by Danish consumers of organic food. **Food Quality and Preference**, v. 71, p. 46-53, 2019.

Euromonitor Internacional, 2018 Herbal/Traditional Products in Brazil Disponível em <<https://www.euromonitor.com/herbal-traditional-products-in-brazil/report>> Acesso em 01 de outubro de 2018.

FEIJÓ, E. V. R. S. et al. Levantamento preliminar sobre plantas medicinais utilizadas no bairro Salobrinho no município de Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 595-604, 2013.

JANNUZZI, Hermes et al. Avaliação agronômica e química de dezessete acessos de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) NE Brown]-quimiotipo citral, cultivados no Distrito Federal. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 3, p. 258-264, 2011.

JANNUZZI, Hermes et al. Avaliação agronômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 412-417, 2010.

LINDE, G. et al. Quimiotipos, extracción, composición y aplicaciones del aceite esencial de *Lippia alba*. **Rev Bras Plant Med**, v. 18, p. 191-200, 2015.

LIU, Zaiyou; PHILLIPS, John B. Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. **Journal of Chromatographic Science**, v. 29, n. 6, p. 227-231, 1991.

MASWAL, Masrat; DAR, Aijaz Ahmad. Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 182-195, 2014.

MEINERT, Cornelia; MEIERHENRICH, Uwe J. A New Dimension in Separation Science: Comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 42, p. 10460-10470, 2012.

OLIVEIRA, Ana Claudia Dias et al. Os dez anos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e os principais entraves da cadeia produtiva de extratos vegetais e medicamentos fitoterápicos no Brasil. 2016.

PASCUAL, M. E. et al. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201-214, 2001.

RODRIGUES, Waldecy. Competitividade e mudança institucional na cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil. **Interações (Campo Grande)**, v. 17, n. 2, 2016.

SALIMENA, Fátima Regina; MÚLGURA, Maria Ema. Notas taxonômicas em Verbenaceae J. St. Hil. do Brasil. Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 66, n. 1, p. 191-197, 2015.

SCHOCKEN, NATALIE REGINA LEOZ. Obtenção de quimiotipos híbridos de *Lippia alba* (Mill) NE Brown. **Campinas, SP**, p. 82, 2007.

THOGERSEN, John. Visioning a green future or longing for the good old days? Basic drivers of organic food consumption in Europe. In: **International Conference of Environmental Psychology**. 2017.

VÁSQUEZ, Silvia Patricia Flores; MENDONÇA, MS de; NODA, S. do N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 4, p. 457-472, 2014.

YANG, Ziyin; BALDERMANN, Susanne; WATANABE, Naoharu. Recent studies of the volatile compounds in tea. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 585-599, 2013.

ZINI, Cláudia Alcaraz. Cromatografia gasosa bidimensional. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 1, p. 31-49, 2009.