

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

BIOLOGIA FLORAL E FRAGRÂNCIAS DAS FLORES DE
Passiflora L.

DANIEL ANTONIO VILLAMIL MONTERO

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

BOTUCATU - SP
Janeiro – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

BIOLOGIA FLORAL E FRAGRÂNCIAS DAS FLORES DE
Passiflora L.

DANIEL ANTONIO VILLAMIL MONTERO

Orientadora: Prof^a Dr^a. Marcia Ortiz Mayo Marques

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

BOTUCATU - SP
Janeiro – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

V715b Villamil Montero, Daniel Antonio, 1985-
Biologia floral e fragrâncias das flores de *Passiflora*
L. / Daniel Antonio Villamil Montero. - Botucatu : [s.n.],
2013
vi, 52 f.: il., color, grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista.
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013
Orientador: Marcia Ortiz Mayo Marques
Inclui bibliografia

1. *Passiflora* - Floração. 2. Flores - composição. 3. Análise cromatográfica. 4. Flores - Fragrância. I. Marques, Marcia Ortiz Mayo. II. Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

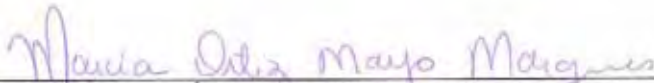
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "BIOLOGIA FLORAL E FRAGRÂNCIAS DAS FLORES DE *PASSIFLORA L*"

ALUNO: DANIEL ANTONIO VILLAMIL MONTERO

ORIENTADORA: PROFª DRª MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROFª DRª MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES



PROFª DRª ROSELAINE FACANALI



PROFª DRª LAURA MARIA MOLINA MELETTI

Data da Realização: 26 de fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e à nossa mãe Natureza.

A meus pais Jairo e Marta Lucia, também aos meus irmãos e a minha amada Natalia pelo apoio incondicional.

Ao Programa Estudante Convenio PEG-PG CAPES/CNPq – Brasil, pela concessão da bolsa.

À Prof^ª Dr^ª. Marcia Ortiz M. Marques e ao Prof. Dr. Lin Chau Ming.

À Dra. Laura M. Meletti pela enorme ajuda e confiança. A Dona Maria das Graças, a Roselaine Facanali, ao Dr. Luis Bernacci do Instituto Agronômico de Campinas.

Finalmente ao Brasil pela valiosa oportunidade.

OFEREÇO

*As flores da Laranja,
minha fonte de inspiração
encheram meus sentidos
com seu doce amor
sem elas na minha vida
esta pesquisa que apresento
não teria sido possível.*

*A Natalia Naranjo,
com amor*

DEDICO

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
RESUMO.....	7
SUMMARY.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Importância do gênero <i>Passiflora</i> L.	15
2.2. Métodos de <i>Headspace</i>	17
2.3. Classificação das fragrâncias.....	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1. Local da pesquisa.....	21
3.2. Espécies estudadas.....	21
3.3. Cultivo e manejo das plantas.....	21
3.4. Biologia floral das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	23
3.5. Preparo e acondicionamento das armadilhas.....	24
3.6. Amostragem das fragrâncias florais.....	24
3.7. Análises cromatográficas.....	25
3.8. Análises estatísticas.....	26
4. RESULTADOS.....	26
4.1. Biologia floral das espécies de <i>Passiflora</i>	26
4.2. Composição química das fragrâncias.....	28
4.3. Eficiência da amostragem, análises de similaridade e componentes principais.....	35
5. DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÕES.....	44
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
8. REFERÊNCIAS.....	46

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Classificação de algumas notas e matérias-primas utilizadas na indústria da perfumaria.....	20
Tabela 2. Captura das fragrâncias florais de <i>Passiflora</i>	25
Tabela 3. Biologia floral de <i>Passiflora</i>	27
Tabela 4. Composição química das fragrâncias florais das espécies de <i>Passiflora</i>	31

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Espécies estudadas de <i>Passiflora</i> : (a) <i>P. alata</i> ; (b) <i>P. edulis</i> ; (c) <i>P. cincinnata</i> ; (d) <i>P. coccinea</i> ; (e) <i>P. quadrangularis</i>	14
Figura 2. Cultivo e manejo das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	23
Figura 3. Captura da fragrância das flores de <i>Passiflora</i> por <i>Headspace</i> Dinâmico (HSD).....	25
Figura 4. Distribuição do período da floração das espécies de <i>Passiflora</i>	28
Figura 5. Cromatograma de íons totais das fragrâncias das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	34
Figura 6. Eficácia da amostragem dos compostos voláteis das fragrâncias florais das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	36
Figura 7. Dendograma da similaridade entre as fragrâncias das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	36
Figura 8. Análise de Componentes Principais tomando como variáveis os compostos voláteis presentes nas fragrâncias das espécies estudadas de <i>Passiflora</i>	37

RESUMO

As flores das espécies do gênero *Passiflora* têm recebido especial atenção por sua extraordinária beleza e complexidade da corola além de suas intensas fragrâncias. A presença de tecidos secretores de compostos voláteis (CV_s) nas flores de *Passiflora* é muito variável, têm grande importância ecológica e prospecção econômica. Atualmente, só se tem registro dos CVs das fragrâncias florais de algumas poucas espécies, obtidos por meio de diferentes metodologias, com resultados variáveis. Durante os anos 2011 e 2012 foi desenvolvida uma pesquisa em parceria UNESP/FCA - Botucatu e Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) para estudar parâmetros da biologia floral e obter a primeira coleção brasileira dos perfis químicos das fragrâncias florais de cinco espécies de *Passiflora* L. (*Passiflora edulis* Sims., *P. alata* Curtis., *P. cincinnata* Mast., *P. coccinea* Aubl. e *P. quadrangularis* L.). As cinco espécies foram cultivadas em ambiente protegido. Os compostos voláteis das fragrâncias das flores de cada espécie foram capturados com a técnica de *Headspace* dinâmico (HSD) e as fragrâncias avaliadas através de teste olfativo. A análise da composição química das fragrâncias foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas e a identificação dos constituintes químicos foi efetuada através dos índices de retenção (IR) seguido da análise comparativa dos espectros de massas com diferentes bancos de dados especializados. Os resultados demonstraram que as espécies estudadas apresentam diferenças significativas na biologia floral, relacionados com o período de floração, desenvolvimento dos botões florais, número e tamanho das flores produzidas. As composições químicas das fragrâncias florais das espécies estudadas têm grande diversidade interespecífica, assim como interessante potencial na indústria da perfumaria, particularmente a fragrância floral de *Passiflora alata*

Curtis. A análise olfativa revelou que a fragrância floral desta espécie é altamente promissora devido à exótica composição de notas doces, frutais e cremosas. As substâncias majoritárias foram linalol para *P. alata*, benzaldeído para *P. cincinnata*, 2-metil-3-pentanona para *P. coccinea*, 1,4-dimetoxi-benzeno para *P. edulis* e geraniol para *P. quadrangularis*.

Palavras-chave: *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. coccinea*, *P. quadrangularis*, *Headspace*, perfume floral.

FLORAL BIOLOGY AND FLORAL SCENT OF *Passiflora* L. Botucatu, 2013. 52p.
Dissertation (Agronomy/Horticulture Master Degree)–Faculty of Agronomical Sciences,
Universidade Estadual Paulista

Author: DANIEL ANTONIO VILLAMIL MONTERO

Advisor: PROF DR. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES

SUMMARY

The flowers of the species from the genus *Passiflora* have received special attention for its extraordinary beauty, complexity of the corona and for their intense fragrances. The presence of volatile compounds (VCs) secreting tissues in the flowers of *Passiflora* is highly variable and have major ecological and economic survey. Currently, there are records of the VCOs of floral fragrances from a few species, obtained by different methods with varying results. During the years 2011 and 2012 a research was carried out as a master's dissertation in partnership between the UNESP-Botucatu/IAC, to study the floral behaviors and developed the first Brazilian collection of the chemical profiles from the floral fragrances of five species of *Passiflora* L. (*Passiflora edulis* Sim, *P. alata* Curtis., *P. cincinnata* Mast., *P. coccinea* Aubl. and *P. quadrangularis* L.). The five species were grown in a greenhouse following specific recommendations. The fragrances of the flowers from each species were evaluated by sensory test and the VCOS were collected with the technique of Dynamic Headspace (DHS). The analyses of the chemical composition of fragrances were conducted using a gas chromatograph coupled to mass spectrometer. The identification of the chemical constituents was carried through the calculation of retention indices (RI) followed by comparative analysis of mass spectra with different specialized databases. The results of the flowering period, development of floral buds, size and number of flower produced showed significative differences between the studied species. Also, the chemical compositions of the floral fragrances from the studied species had large interspecific diversity, as well as interesting potential in the fragrance industry, particularly the floral fragrance of *P. alata*. The olfactive analysis revealed that this species is highly promissory due to the exotic composition of fruity, sweetly and creamy notes. The main substances found were linalool for *P. alata*, benzaldehyde for *P. cincinnata*, 2-methyl-3-pentanone for *P. coccinea*, 1,4-dimethoxybenzene for *P. edulis* and geraniol for *P. quadrangularis*.

Key words: *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. coccinea*, *P. quadrangularis*, Headspace, flower scent.

1. INTRODUÇÃO

A história das fragrâncias na perfumaria conheceu vários momentos, desde quando o perfume era obtido a partir da queima de madeira e resinas até sua aplicação na moderna indústria de cosméticos, de essências aromáticas, de alimentos e em outras tantas áreas (MARQUES; TOLEDO, 2007). Desde os primórdios da história os homens foram cativados pelos aromas perfumados das plantas. A origem da palavra “perfume” sugere que os aromas eram inicialmente tidos como divinos, servindo como oferendas em sacrifícios. Posteriormente, os perfumes acompanharam os homens por todas as culturas. O perfume (do latim *per fumum* = “através da fumaça”) apresenta uma trajetória extraordinária, que tem início nas queimas de ervas e madeiras usadas pelos povos antigos nos banhos aromáticos, seguido da descoberta da destilação no século X pelos árabes, que origina os primeiros perfumes à base de essências extraídas de flores e frutos. No século XIX, com os avanços da química orgânica, o perfume evoluiu para as fragrâncias sintéticas, e na atualidade, graças às técnicas mais recentes de extração e identificação de substâncias, os perfumes modernos são baseados nas fragrâncias florais das plantas mais exóticas do mundo (MARQUES; TOLEDO, 2007).

O Brasil possui tradição na exploração comercial de produtos aromáticos, em especial os óleos essenciais, cujas atividades iniciaram na década dos anos 20s, tendo como base o puro extrativismo de essências nativas, principalmente do pau-rosa (*Aniba roseodora* Ducke), espécie da floresta Amazônica, cujo óleo essencial extraído da madeira e rico em linalol é utilizado pela indústria de perfumaria. A partir da segunda guerra mundial o país passou a produzir considerável número de óleos essenciais. Na década dos anos 50 o Brasil alcançou a liderança mundial na produção de mentol e óleo

desmentolado, em decorrência da criação da cultivar IAC-701 de *Mentha arvensis*, resistente a ferrugem, pelo Instituto Agrônomo (IAC). Hoje o país é o maior produtor mundial de óleo essencial de laranja, subproduto da indústria de suco. No mercado mundial de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, o Brasil ocupou a terceira posição com movimentação de \$ 37.4 bilhões de US\$ em 2010. Também, foi o primeiro mercado em desodorante, produtos infantis e perfumaria; segundo mercado em produtos para higiene oral, proteção solar, masculinos, cabelos e banho; terceiro em produtos cosmético de cores; quarto em pele e quinto em depilatórios (ABIHPEC, 2010).

O Brasil tem posição de destaque no cenário mundial quanto ao desenvolvimento de novas fragrâncias, em especial, as de origem floral devido a crescente demanda mundial por produtos de origem natural associado ao fato do Brasil possuir a maior diversidade vegetal do planeta. As fragrâncias das flores são constituídas por uma grande variedade de compostos voláteis (CVs) emitidos pelas diferentes partes das flores (AMELA-GARCÍA; GALATI; HOC, 2007). Estes CVs têm massas moleculares muito pequenas e são difundidos no ar principalmente como atraente e guia de polinizadores (KNUDSEN et al., 2004). Atualmente, os CVs podem ser capturados diretamente do ar que rodeia a flor sem realizar ferimentos na planta e sem alterar a composição química da fragrância da flor. Posteriormente, os CVs podem ser separados e analisados por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) para determinar a composição do perfil químico da fragrância floral.

As flores das espécies do gênero *Passiflora* têm recebido especial atenção por sua extraordinária beleza e complexidade da corola, além de suas intensas fragrâncias (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN, 2000; VARASSIN; TRIGO; SAZIMA, 2001; AMELA-GARCÍA; GALATI; HOC, 2007; PONTES; MARQUES; CÂMARA, 2009). A presença de tecidos secretores de CVs nas flores de *Passiflora* é muito variável, têm grande importância ecológica e prospecção econômica (VARASSIN; TRIGO; SAZIMA, 2001; JÁUREGUI; GARCÍA, 2002; AMELA-GARCÍA; GALATI; HOC, 2007). Atualmente, só se tem registro dos CVs das fragrâncias florais de algumas poucas espécies, obtidos por meio de diferentes metodologias de extração, podendo-se citar a extração com solventes orgânicos, *Headspace* (HS), *Headspace* dinâmico (HSD) e Microextração em fase sólida (MEFS), seguida das análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), com resultados variáveis, dependendo da

metodologia empregada (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN, 2000; VARASSIN; TRIGO; SAZIMA, 2001; AMELA-GARCÍA; GALATI; HOC 2007; PONTES; MARQUES; CÂMARA, 2009).

Estudos referentes à caracterização química dos compostos voláteis das flores de passifloras são escassos, em especial das espécies nativas do Brasil. A caracterização extensiva da composição química das fragrâncias florais do gênero *Passiflora* contribui com a documentação da primeira coleção brasileira dos perfis químicos das fragrâncias do gênero e o potencial descobrimento de novas fragrâncias florais com impacto na indústria de perfumaria. Por tanto os objetivos desta pesquisa foram:

Objetivo geral:

Estudar a biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Figura 1) e criar a primeira coleção brasileira dos perfis químicos de suas fragrâncias florais.

Objetivos específicos:

-Estudar parâmetros da biologia floral de cinco espécies de *Passiflora*.

-Capturar, analisar e comparar a composição química das fragrâncias florais das cinco espécies de *Passiflora*.



Figura 1. Espécies estudadas de *Passiflora*: (a) *P. alata*; (b) *P. edulis*; (c) *P. cincinnata*; (d) *P. coccinea*; (e) *P. quadrangularis*.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Importância do gênero *Passiflora* L.

A família Passifloraceae compreende cerca 650 espécies divididas entre 18 gêneros segundo a classificação mais recente proposta por MacDougal e Feuillet (2004). O gênero *Passiflora* L., com aproximadamente 575 espécies, é numericamente e economicamente o mais importante. A maioria das espécies deste gênero é nativa da América Tropical, mas aproximadamente 30 espécies do subgênero *Decaloba* (DC) são originárias da Ásia, Austrália, África e Europa (ULMER; MacDOUGAL, 2004; OCAMPO et al., 2007). Mais de 80 espécies produzem frutos comestíveis (MARTIN; NAKASONE, 1970) alguns com elevada qualidade nutricional e alto valor econômico, incluindo *P. edulis* f. *flavicarpa* conhecido como maracujá amarelo (terceira fruta mais consumida no Brasil) a qual representou um mercado interno de R\$ 796 milhões no ano 2010 (IBGE, 2010). Outras espécies são apreciadas por suas propriedades farmacológicas na preparação de fitoterápicos, sendo *Passiflora edulis* Sims, *Passiflora incarnata* L. e *Passiflora alata* Curtis as mais populares e consumidas. Neste aspecto, recentes pesquisas têm demonstrado que as espécies de *Passiflora* contêm vários princípios ativos e atividade biológica de valor terapêutico contra importantes doenças e afecções, incluindo atividade sobre o sistema nervoso, antimicrobiana e antioxidante (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; ULMER; MacDOUGAL, 2004; COSTA; TUPINAMBÁ, 2005). Outras pesquisas destacam a notável diversidade do gênero, assim como a crescente preocupação pela ameaça de erosão genética devido à perda de habitats (FALEIRO; JUNQUEIRA; BRAGA, 2005; OCAMPO et al., 2007, OCAMPO; COPPENS D'EECKENBRUGGE; JARVIS,

2010). Por esta razão existem no Brasil as maiores coleções de germoplasma do mundo, com cerca de 67 espécies, vários híbridos e diferentes cultivares, mantidas em oito centros de pesquisa (FERREIRA et al., 2005). Não obstante, o número relativo ainda é muito pouco e maiores esforços são necessários para preservar o germoplasma das espécies brasileiras. Dentro das espécies de *Passiflora* de importância econômica destacam-se:

O maracujá (*Passiflora edulis* Sims) ou fruta da paixão é a espécie mais consumida, estudada, cultivada e comercializada devido à qualidade de seus frutos e ao maior rendimento industrial. O Brasil é o maior produtor de maracujá amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*), com 70% da produção mundial, seguido da Colômbia e Equador. Segundo os dados publicados pelo IBGE (2010) no Brasil foram plantadas 62 mil ha. de *P. edulis* e a produção interna alcançou 920 mil toneladas, com valor de R\$ 796 milhões. Outro aspecto importante, apesar de serem ainda incipientes, são os subprodutos do cultivo, como as folhas para chá, a farinha da casca, as sementes na produção de óleo fixo e as fragrâncias naturais de flores e frutos com alto potencial na indústria cosmética.

O maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) embora originária do Brasil é desconhecida para a maioria da população. Ao contrário do maracujá amarelo é exclusivamente consumida como fruta fresca. Floresce quase o ano todo em locais de clima quente, e de setembro a maio em regiões de clima ameno. Suas flores grandes, vistosas e fragrantas possuem alto valor ornamental. Suas folhas são sedativas com propriedades calmantes comprovadas no tratamento de diferentes transtornos nervosos (MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010)

P. cincinnata Mast. conhecida comumente como “maracujá do mato” é bastante comum no Brasil e também se encontra distribuída nos países vizinhos da América do Sul. É uma espécie polimorfa, bastante variável em quanto à coloração da flor, tamanho e formato do fruto, maturação, coloração e sabor da polpa. Diferencia-se da maioria de passifloras por ter folhas profundamente quinquelobadas e frutos capazes de permanecer ligados à planta por um longo período. A maturação dos frutos é bem mais demorada que a dos outros maracujazeiros e eles apresentam coloração verde-palha, na maioria das vezes sem brilho. A colheita dos frutos é feita quando a casca ainda está verde, mas em tonalidade mais clara, e quando “amolece, ao ser levemente pressionada com os dedos. São comestíveis e apresentam sabor característico considerado parecido com o sabor da carambola ou da graviola. (MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010). As

plantas são rústicas e vigorosas, com flores solitárias, grandes e perfumadas, com alto valor ornamental.

P. coccinea Aubl também é conhecida comumente como maracujá do mato ou maracujá-tomé-açu, é uma trepadeira de elevado valor ornamental devido ao fato de florescer praticamente o ano todo. Suas flores abrem nas primeiras horas da manhã e ficam abertas o dia inteiro. Suas flores são abundantes e bastante atraentes, grandes e largas, com pétalas de cor vermelha intenso. O suco dos frutos é de excelente sabor acedo quando preparado como refresco. A espécie é de ampla distribuição neotropical e varias cultivares têm sido desenvolvidas para o mercado das plantas ornamentais (MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010).

O maracujá melão, maracujá-açu ou badea (*P. quadrangularis* L.) é uma trepadeira de grande porte, caule grosso e intenso desenvolvimento, bastante cultivada nas regiões tropicais, principalmente no Caribe. Os frutos são os maiores do gênero com ate 6 kg, de sabor doce-acidulado, sendo consumido ao natural ou em compotas. As flores são solitárias, grandes, fragrantes e de coloração branca com púrpura. Comercialmente os pomares existem em escala domestica. As plantas não suportam geadas e ventos frios, por isso, desenvolve-se melhor em regiões quentes. Esforços na manutenção desta espécie de maracujazeiro devem ser intensificados, pois sua difícil manutenção em coleções e a perda de *habitat* ameaçam a sua extinção local (MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010).

2.2 Métodos de *Headspace*

A introdução de cromatografia em fase gasosa em 1960 foi um passo fundamental para uma melhor caracterização das substâncias odoríferas. A investigação das matérias primas e o avanço dos métodos analíticos permitiram o desenvolvimento e aplicação de técnicas especializadas na captura e amostragem de substâncias voláteis, tais como as técnicas de *headspace*, com as quais foi possível avançar na pesquisa e subseqüente reconstituição de todos os tipos de aromas naturais (KAISER, 1991).

Desde sua introdução por Pawlizyn e Arthur (1990), a metodologia de microextração em fase sólida do *headspace* de amostras (HS-MEFS) foi amplamente acolhida pela comunidade científica por ser facilmente reproduzível, economicamente

viável e livre do uso de solventes orgânicos (Van RUTH, 2001). Além disso, tem despertado crescente interesse pela aplicabilidade em diferentes áreas comerciais como a indústria de alimentos (WERKHOF et al., 1998; GALVÃO et al., 2004) e na indústria cosmética já que os aromas naturais são à base das fragrâncias sintéticas da perfumaria moderna (TERANISHI; KINT, 1993; KAISER, 2004; SCHILLING; KAISER; NATSCH, 2009). A técnica emprega o uso de uma fibra de sílica coberta por um polímero adsorvente para capturar e concentrar analitos presentes no *headspace* (espaço de ar diretamente ao redor) das amostras, o qual pode ser estático ou dinâmico (HSD), dependendo do uso ou não de bombas para gerar correntes de ar. Geralmente, é aplicada para amostras de concentrações no intervalo entre partes por milhão (ppm) e partes por bilhão (ppb). Os métodos de *headspace* tem demonstrado ampla versatilidade, além de estar sendo utilizados numa grande quantidade de problemas analíticos. Pesquisadores em diferentes áreas têm usado HS-MEFS e HSD para resolver várias análises difíceis, incluindo as do tipo ambiental, farmacológico, de alimentos e de produtos naturais.

As fragrâncias florais de aproximadamente 90 famílias botânicas têm sido estudadas, sendo a família Orchidaceae a mais coletada (KAISER, 1993), seguida de outras famílias (e.g. Araceae, Arecaceae, Cactaceae, Nyctaginaceae, Solanaceae) com um número razoável de espécies estudadas (KNUDSEN et al., 2006). Embora a maioria das famílias botânicas permaneçam pouco estudadas ou desconhecidas com relação à composição química de suas fragrâncias florais, a documentação detalhada relacionada com a captura e análises de fragrâncias florais com métodos de *Headspace* esta descrita nos trabalhos de Knudsen et al. (2006), Bicchi et al. (2007) e Harlalka (2008). No caso do estudo das fragrâncias florais da família Passifloraceae por métodos de *Headspace* uma única citação encontra-se na literatura (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN., 2000), onde os autores avaliaram a composição química de 12 espécies utilizando HSD.

2.3. Classificação das fragrâncias

Tentativas para categorização os cheiros tem sido desenvolvidas ao longo do tempo. As etiquetas dadas a varias características do *bouquet* dos vinhos é um exemplo conhecido. Os cientistas que trabalham com características organolépticas dos

óleos essenciais também tem tentado classificar vários odores. Estas descrições podem fornecer ou não informação relacionada com o odor e têm sido colocadas em variedade mapas de odores (“*odour maps*”) ou rodas de odores (“*odour wheel*”) adaptada para seu uso por profissionais de varias indústrias (TRONSON, 2001).

A arte da perfumaria pode ser comparada à arte da música e recebe em sua classificação denominações como a nomenclatura da musicalidade. Na perfumaria moderna cada aroma recebe o nome de “nota”, suas misturas de “acordes” ou “harmonia” da fragrância. Cada perfume tem uma sinfonia aromática e segue um ritmo olfativo. Diante disso é importante que as notas do perfume estejam em equilíbrio, harmonia e combinando entre si (BARROS, 2007). Na indústria da perfumaria, atenção especial é dada ao desempenho dos materiais usados na composição do perfume (Tabela 1). Estes matérias são comunmente classificadas em notas que poderão ser de três tipos: saída, corpo e fundo (MATA; GOMES; RODRIGUES, 2005). As notas de saída são muito voláteis e são percebidas só por alguns minutos. Exemplos são óleos de *Citrus* como limão ou lima. As notas do corpo, também chamadas do meio, representam o “corpo” do perfume e são percebidas por algumas horas, depois das notas da saída desaparecer. Exemplos são as notas florais como rosa ou jasmim. As notas do fundo têm a menor volatilidade e permanecem durante varias horas (inclusive dias) depois da aplicação. As notas do fundo são utilizadas como fixadores de todo o perfume já que reduzem a volatilidade das notas do corpo e saída. Comumente os perfumes são representados de forma piramidal e as proporções sugeridas por cada tipo de nota são: 15-25% notas de saída; 30-40% notas do corpo; e 45-55% notas do fundo. As diferentes características destas notas são baseadas nas propriedades dos constituintes principais como a volatilidade, polaridade e afinidade por media (MATA; GOMES; RODRIGUES, 2005).

Tabela 1. Classificação de algumas notas e matérias-primas utilizadas na indústria da perfumaria segundo reportado por Barros (2007).

NOTAS	MATÉRIAS-PRIMAS	
	NATURAIS	SINTÉTICAS
RÚSTICAS	Óleo essencial de Lavanda	Acetato de Linalila
ANIMÁLICAS	Absoluto de Castóreo	Indol
ANISADAS	Óleo essencial de Estragão	Anetol
BALSÂMICAS	Absoluto de Baunilha	Álcool cinâmico
AMADEIRADAS	Óleo essencial de Patchuli	Acetato de cedrila
CITRONELAS	Óleo essencial de Citronela	
DOCES	Absoluto de laranjeira	Vanilina
ESPECIADAS	Óleo essencial de Noz Moscada	Eugenol
JAZMINADAS		Acetato de benzila
FLORAIS	Absoluto de Jasmim	Hidroxicitronelal
FRUTAIS		Acetato de amila
MENTOLADAS	Óleo essencial de Menta	Mentol
ALARANJADAS	Óleo essencial de Neroli	Antranilato de metila
RESINAS	Óleo de Mirra	
ROSAS	Absoluto de Rosa	Geraniol
VERDES	Óleo essencial de Tagete	
CÍTRICAS	Óleo essencial de Bergamota	Citral
ALDEÍDICAS		Aldeído C-12 Láurico
MUSKY		<i>Exaltolide</i>
MISCELÂNEAS		<i>Calone</i>
AMBARADAS		<i>Ambroxan</i>

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Fazenda Santa Elisa, Campinas (SP), durante os anos 2011 e 2012. A propagação e manutenção das plantas e a amostragem do experimento foi realizada no Setor de Produção Vegetal do IAC. A análise das amostras foi conduzida no Laboratório de Produtos Naturais do Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais do IAC (SP).

3.2. Espécies estudadas

O trabalho foi desenvolvido com cinco espécies de *Passiflora* do Banco de Gremoplasma (BAG) do IAC, escolhidas segundo o levantamento preliminar da literatura. O caráter de interesse foi a presença de flores fragrantas, com base na experiência pessoal dos pesquisadores envolvidos no projeto e na disponibilidade dos materiais dentro do BAG de *Passiflora* do IAC. As espécies selecionadas foram *Passiflora edulis* Sims., *P. alata* Curtis., *P. cincinnata* Mast., *P. coccinea* Aubl. e *P. quadrangularis* L.

3.3. Cultivo e manejo das plantas

Entre os meses de junho e setembro de 2011 foram produzidas mudas a partir de sementes provenientes da coleção *Passiflora* do BAG do IAC. A germinação foi feita sob ambiente controlado, segundo o protocolo de Produção de maracujá do IAC (MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010). As mudas foram mantidas em sacos plásticos de 14x28 cm com irrigação manual uma vez por dia em telado antiafídico. Quando as mudas atingiram ± 60 cm de altura foram transplantadas para vasos

plásticos de 30L, furados no fundo. O substrato utilizado nos vasos foi uma mistura homogeneizada de 100 kg de substrato orgânico comercial, 75 kg de fibra de coco, 1 kg de calcário dolomítico, 1 kg de fósforo comercial e 0,5kg de torta de mamona. Dez dias depois do transplante as plantas foram levadas para uma estufa antiafídea, e mantidas sob irrigação manual três vezes por semana. As plantas foram conduzidas em sistema de espadeira com um único fio de arame liso, a altura de 1,70m. Quando as plantas atingiram a altura do fio, foi podado o meristema apical para conduzir duas hastes, uma para cada lado do fio, visando à formação de cortinas produtivas a partir dos ramos secundários para facilitar a amostragem (Figura 2). Todas as gemas da haste principal abaixo do fio de arame foram desbrotadas manualmente, antes de se desenvolverem para aumentar o diâmetro das hastes principais. Durante os três primeiros meses após do transplante, em intervalos de 15 dias, foi feita adubação foliar com NPK 28-14-14 mais os micro nutrientes 0,1g Fe, 0,05g Mn, 0,05g Zn, 0,05g Cu, 0,02g B e 0,0005 Mo. A seguir, foi feita adubação sólida com NPK 20-5-20, aplicando 100 g/planta, mensalmente. Durante a época de floração foi aplicado adicionalmente, 1 kg de KCl misturado ao substrato e incrementando a adubação com NPK 8-8-8 (líquido) na proporção 7,5ml/L água e 0,025 L de Ca-Mg-B, a cada 25 dias, para favorecer e ampliar a floração das plantas.



Figura 2. Cultivo e manejo das espécies estudadas de *Passiflora*.

3.4. Biologia floral

Quando as plantas entraram no estágio reprodutivo, registrou-se o período de floração no ano, assim como os horários de abertura das flores no dia. O correspondente registro fotográfico para cada espécie foi feito (Figura 1), anotando-se as seguintes características para cada espécie: Número de semanas até surgimento dos botões florais; dias de desenvolvimento do botão floral; tamanho máximo do botão floral (cm); diâmetro da flor (cm); período de floração; número de flores abertas por dia e total de flores produzidas por planta.

3.5. Preparo e acondicionamento das armadilhas

As armadilhas usadas para captura das fragrâncias florais foram confeccionadas e acondicionadas segundo a metodologia descrita por Vieira (2006): as armadilhas foram confeccionadas em tubo de vidro de 6 mm de diâmetro externo e 2,2 mm de diâmetro interno onde foram acondicionados 100mg de *Porapak Q* (SUPELCO), fixadas com 1cm de fibra de vidro (SUPELCO) em cada extremidade do tubo. As armadilhas assim preparadas foram lavadas com 10 mL de metanol (TEDIA, grau cromatográfico), 10mL de diclorometano (MERCK, grau cromatográfico) e 10mL de hexano (TEDIA, grau cromatográfico), sucessivamente, e mantidas em estufa a 170°C por 8 horas, sob fluxo de nitrogênio (WHITE MARTINS, 99,9%) de 32 mL/min. Após o uso, as armadilhas foram acondicionadas através da lavagem com 3 mL de solução hexano, acetato de etila, metanol (1:1:1) grau cromatográfico e mantidas em estufa a 180°C, por 2 horas, sob fluxo de nitrogênio (32 mL/min). Depois do acondicionamento uma amostra das armadilhas foi reinjetada no CG/EM para descartar a presença de possíveis resíduos contaminantes.

3.6. Amostragem das fragrâncias florais

Primeiro, uma padronização foi feita por meio da técnica HS-MEFS para descartar possíveis contaminantes presentes nos materiais utilizados. Posteriormente, as fragrâncias das flores de cada espécie foram capturadas com o método de *Headspace* dinâmico (HSD) adaptado de SCHILLIN et al. (2010). Em cada amostragem, uma flor foi inserida num funil de vidro coberto com uma sacola de poliacetato e o ar no interior do sistema aprisionado em uma armadilha de vidro contendo 100mg de *Porapak Q* (SUPELCO), durante 1 hora, por meio de sucção usando uma bomba de vácuo portátil com fluxo de 100mL/min (Figura 3). Para cada espécie foram feitas cinco repetições com capturas sempre no mesmo horário (Tabela 2). Para cada espécie foi coletada uma amostra controle de uma sacola só com material vegetativo da mesma planta. Complementariamente, foi realizada a descrição olfativa das fragrâncias florais por perfumista da empresa Givaudan do Brasil Ltda.

Depois de capturadas as fragrâncias, as armadilhas foram seladas com parafilme, cobertas com papel alumínio e mantidas sob-refrigeração a -5°C. As fragrâncias

foram dessorvidas das armadilhas utilizando 300 μ L de acetato de etila e hexano (1:1). Uma amostra de 1 μ L da solução resultante foi injetada no CG/EM para análise da composição química das fragrâncias.

Tabela 2. Captura das fragrâncias florais de *Passiflora*

Espécie	Mês	Antese	Tempo captura	Repetições
<i>P. alata</i>	Julho	Manhã	1 hora	5
<i>P. cincinnata</i>	Abril	Manhã	1 hora	5
<i>P. coccinea</i>	Maio	Manhã	1 hora	5
<i>P. edulis</i>	Março	Tarde	1 hora	5
<i>P. quadrangularis</i>	Junho	Manhã	1 hora	5



Figura 3. Captura da fragrância das flores de *Passiflora* por *Headspace* Dinâmico (HSD)

3.7. Análises Cromatográficas

A análise da composição química das fragrâncias foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM, SHIMADZU, QP- 5000,

KYOTO, JAPAN), operado por impacto de elétrons (70 eV), dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 µm), gás de arraste hélio (1,0 mL/min); injetor a 240 °C e detector a 230 °C, modo de injeção: *splitless*. Volume de injeção: 0,4 µL da solução e o seguinte programa de temperatura: 35°C (5min); 35°C -180°C, 3°C/min; 180°C-240°C, 8°C/min. A identificação dos constituintes químicos foi efetuada através da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62.lib) índice de retenção (ADAMS, 1995 e 2007) e publicações complementares quando necessário. Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos através da injeção de uma mistura de n-alcenos (C₇-C₂₄) aplicando se a equação de Van der Dool e Kratz (1963).

3.8. Análises estatísticas

Para comparar os dados da biologia floral entre as espécies estudadas foram conduzidos os testes de Leven, Anava e Tukey para cada variável no programa MiniTab ver.14. Para avaliar a eficiência da amostragem dos compostos voláteis foi conduzida a análise de eficácia da amostragem e o respectivo gráfico foi gerado utilizando o programa BioDiversity Pro.2 (1997), visualizando cada amostra como um ambiente diferente e os compostos voláteis como as espécies presentes nela. Baseado nos resultados da análise cromatográfica das fragrâncias, a similaridade entre as espécies estudadas foi avaliada empregando o método de análises da distância do coeficiente de correlação ilustrado no dendograma de similaridade também gerado com o programa BioDiversity Pro.2 (1997). Finalmente a comparação da composição química das fragrâncias das espécies estudadas foram analisadas estatisticamente mediante o método de análises de componentes principais no mesmo programa BioDiversity Pro para descrever a variação dos dados entre as espécies.

4. RESULTADOS

4.1 Biologia Floral das espécies de *Passiflora*

A biologia floral variou significativamente entre as espécies estudadas ($p < 0,05$). Os resultados e as análises estatísticas estão apresentadas na Tabela 3. Os períodos de floração de todas as espécies estão apresentados no gráfico de floração

(Figura 4). A taxa média de desenvolvimento dos botões florais por dia foi 2,6 mm para *P. alata*, 1,6 mm para *P. cincinnata*, 2 mm em *P. coccinea*, 3,7 mm para *P. edulis* e 4,9 mm para *P. quadrangularis*.

A primeira espécie em florescer foi *P. edulis*. Os primeiros botões florais foram observados quatro meses depois do transplante e a floração iniciou cinco meses depois do transplante, no mês de fevereiro de 2012, prolongando-se até o final do mês de junho do mesmo ano. No mês de março observou-se os primeiros botões florais das outras quatro espécies e a floração delas iniciaram o mês de abril. *P. coccinea* foi à segunda espécie em florescer, seguida de *P. cincinnata*, *P. alata* e finalmente *P. quadrangularis*. Os resultados das características observadas se apresentam na Tabela 3 e Figura 4.

Tabela 3. Biologia floral de *Passiflora*

Espécies	Floração (mês)	Desenvolvimento do botão floral (dias)*	Tamanho Máximo do botão floral (cm)*	Diâmetro da flor (cm)*	Antese (hora)	Semanas até o pico da floração	Total de flores produzidas por planta
<i>P. alata</i>	Abril-continua	23,2 ± 1,9 a	6,3±0,19d	10,12±0,13d	07:00	33	210
<i>P. cincinnata</i>	Abril-Julho	24,4± 1,7 a	4,1±0,1a	8,064±0,14b	08:00	Constant	154
<i>P. coccinea</i>	Março-continua	28,4± 1,14b	5,6±0,15c	7,040±0,11a	07:00	Constant	178
<i>P. edulis</i>	Fevereiro-Junho	13,6± 1,14c	5,1± 0,13b	9,530±0,26c	13:00	21	244
<i>P. quadrangularis</i>	Abril-Julho	13,4±0,9c	6,4± 0,27d	11,8±0,16d	08:00	28	58

Os dados do desenvolvimento do botão floral; tamanho Máximo do botão floral e diâmetro da flor são as médias de cinco repetições com ± desvio padrão. Os demais dados são da observação pessoal durante o experimento.

Teste de Levene: desenvolvimento do botão floral (p-value = 0,878); tamanho Máximo do botão floral (p-value = 0,649); diâmetro da flor (p-value = 0,421)

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

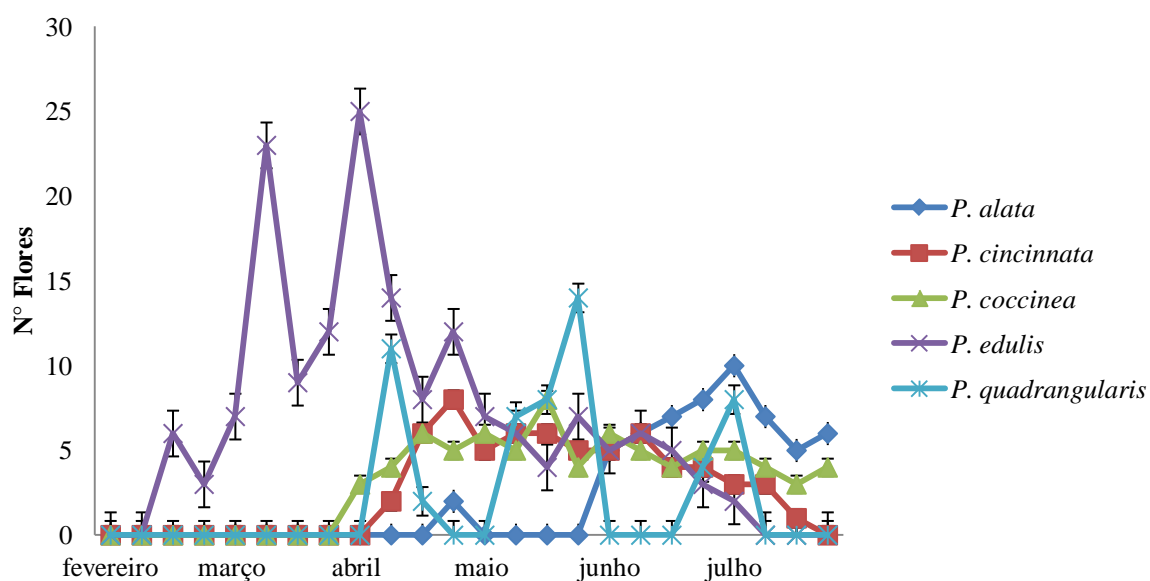


Figura 4. Distribuição do período da floração das espécies de *Passiflora*

4.2. Composição química das fragrâncias

As fragrâncias das espécies estudadas foram muito intensas e agradáveis, com exceção de *P. coccinea* cujas flores apresentam pouca fragrância. As fragrâncias foram evidentemente variáveis em relação a sua composição química, no número de substâncias, classes químicas e na porcentagem relativa (%) de cada um dos CVs. (Tabela 4 e Figura 5).

No total foram identificados 47 substâncias nas cinco espécies, classificadas nas seguintes categorias, dependendo da sua estrutura química: alifáticos, benzenóides e fenil propanóides e terpenos.

Observou-se que a fragrância das flores de *P. alata* é bastante intensa, com uma mistura interessante e rica em notas de flores brancas e forte presença de notas cítricas e frutais, com subnotas de mel e tom cremoso. Baseado nas análises CG/EM da fragrância de *P. alata*, foram identificadas 21 substâncias. A fragrância de *P. alata* esta constituída principalmente por monoterpenos (81,8%), benzenóides (8,8%) e alifáticos (6,6%). Os monoterpenos linalol (40,2%) e citronelol (22,4%) apareceram como substâncias majoritárias.

As flores de *P. cincinnata* apresentam uma fragrância doce e bastante agradável com notas balsâmicas e jasminadas que lembram de certo modo o aroma dos lírios e da baunilha além de notas de flores brancas e forte odor crisólico com subnotas de mel. Baseado nas análises cromatográficas da fragrância de *P. cincinnata*, 17 substâncias foram identificadas. Os compostos alifáticos constituíram a maior proporção relativa (65,4%) e também apresentaram o maior número de CVs com 14 substâncias identificadas. Os espectros de massas das substâncias com tempo de retenção de 8 min até 12 min demonstraram padrão de fragmentação de hidrocarbonetos ramificados (alifáticos), porém, não foi possível a identificação por falta de índices de retenção (IR) na literatura ou padrões comerciais para comparação. A fragrância de *P. cincinnata* também apresenta uma alta proporção relativa de benzenóides e fenilpropanóides (25,7%) dos quais foram identificados cinco substâncias, incluído a majoritária (benzaldeído), que constitui 14,7% do total da fragrância.

No caso das flores de *P. coccinea* a fragrância é extremamente sutil, quase imperceptível ao olfato humano, com notas doces (provavelmente relacionadas ao acúmulo de néctar) e verdes. A composição química desta fragrância é composta principalmente por substâncias alifáticas (86,6%) e benzenóides e fenilpropanóides (4,5%). Além destes, substâncias não identificadas constituíram 9,2% da fragrância. A cetona acíclica 2-metil-3-pentanona foi majoritária, correspondendo a 16,3% do total da fragrância.

A fragrância das flores de *P. edulis* foi intensa, doce e com notas muito particulares. A fragrância tem aspectos de Ylang-Ylang, balsâmicos, anisados, animalísticos (notas creólicas com benzoato de metila) com frescura cítrica de toronja (decatona). Segundo o análises cromatográficas, 25 substâncias foram identificadas. A maior parte da fragrância (60%) foi constituída por sete benzenóides e fenilpropanóides, dentro dos quais, a substância 1,4-dimetoxi-benzeno, apresentou a maior proporção relativa da fragrância (44,7%). As substâncias alifáticas (29,8%) foram as mais diversas com 15 identificadas. Curiosamente, os monoterpenos só constituíram 1,2% da fragrância.

Finalizando, percebeu-se que a fragrância das flores de *P. quadrangularis* é bastante intensa com notas de *velvet*, ozônio e espumante/maça e melancia. Também apresenta tons sutilmente sulfurados com um acorde de flor de rosa arredondado por um frutado especial e cítrico, além de notas florais-frutais, de rosa e

pêssego. Baseados nas análises cromatográficas foram identificadas 19 substâncias. A maior proporção relativa da fragrância foi constituída por nove substâncias pertencentes à classe dos monoterpenos (57,4%) e nove benzenóides e fenilpropanóides (25,0%). Dos compostos alifáticos foram identificados quatro, os quais constituíram uma baixa proporção (9,2%). A substância majoritária da fragrância foi o geraniol (43,6%).

Tabela 4. Composição química (%) das fragrâncias florais das espécies de *Passiflora*.

ID ¹	IR ²	SUBSTÂNCIAS	Porcentagem média relativa (%)				
			<i>P. alata</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. edulis</i>	<i>P. quadrangularis</i>
ALIFÁTICA							
CG/EM	-	2-METIL -3-PENTANONA, -	2,21	14,46	16,30	4,75	2,79
CG/EM, IR	702	HEPTANO	0,67	2,47	8,11	1,60	2,70
CG/EM, IR	716	METIL ISO-BUTIL CETONA	0	0	0	0,30	0
CG/EM	745	2,5-DIMETIL-2-HEXENO	1,90	9,60	8,76	4,20	0
CG/EM	760	NI	0	2,03	2,32	0	0
CG/EM, IR	768	ACETATO DE ISOBUTILA	0	2,20	0	2,40	0
CG/EM, IR	787	2-HEXANONA	0	5,93	5,6	0	0
CG/EM, IR	792	OCTANO	0	2,64	0	0	0
CG/EM, IR	797	2-HEXANOL	1,87	0	2,71	0	2,54
CG/EM	801	3-HEXIL-HIDROPEROXIDO	0	2,75	2,10	0,80	1,18
CG/EM	806	3-PENTEN-2-OL	0	3,60	0	1,30	0
CG/EM, IR	814	ACETATO DE BUTILA	0	0	0	5,4	0
CG/EM	821	NI	0	2,10	0	0	0
CG/EM, IR	863	4-METIL -OCTANO, -	0	1,90	0	0	0
CG/EM, IR	1000	DECANO	0	0	0	0,02	0
CG/EM	1060	2,4-DIMETIL-DECANO	0	7,90	0	1,20	0
CG/EM, IR	1103	UNDECANO	0	5,53	3,55	0,50	0
CG/EM, IR	1201	DODECANO	0	0	15,91	2,70	0
CG/EM, IR	1286	TRIDECANO	0	2,35	0	0,60	0
CG/EM	1329	NI	0	0	2,16	0	0
CG/EM, IR	1403	TETRADECANO	0	0	14,77	2,1	0
CG/EM, IR	1605	HEXADECANO	0	0	4,32	2,0	0
TOTAL			6,65	65,46	86,61	29,87	9,21
BENZENÓIDES E FENIL							
PROPANÓIDES							

CG/EM	785	ACETATO DE ALILA	0,93	0	0	0	3,02	2,17
CG/EM, IR	956	BENZALDEÍDO	0	14,7	0	0	0	0
CG/EM, IR	1032	ALCOOL BENZILICO	1,22	0	0	1,40	0,93	0
	1066	NI	0	2,40	0	0	0	0
CG/EM, IR	1110	FENIL-ETIL ALCOOL	0	2,40	0	0	2,69	2,43
CG/EM, IR	1161	4-ETIL-BENZALDEIDO	Trace	3,50	0	1,70	0	0
CG/EM, IR	1163	1,4-DIMETOXI-BENZENO	6,18	0	0	44,7	0	0
	1245	NI	0	0	1,62	0	0	0
CG/EM, IR	1281	3,4 DIMETILACETOFENONA	0,54	2,69	0	1,10	1,61	2,55
CG/EM, IR	1382	TRANS- CINNAMATO DE METILA	0	0	0	5,90	0	0
CG/EM, IR	1409	1,3,5-TRIMETOXI-BENZENO,	0	0	0	2,10	0	0,28
CG/EM	1487	PRENIL BENZOATO	0	0	0	0	0	10,85
CG/EM, IR	1502	TIGLATO DE BENZILA	0	0	0	0	0	0
CG/EM, IR	1514	4-METIL-2,6-DI-TERC-BUTILFENOL	0	0	2,97	0	0	0
CG/EM, IR	1589	2- ETIL-FENIL TIGLATO	0	0	0	0	0	1,52
		TOTAL	8,87	25,69	4,59	59,92	25,03	
		MONOTERPENOS						
CG/EM, IR	992	MIRCENO	0,39	0	0	0	0	1,97
CG/EM, IR	1026	LIMONENO	0,24	0	0	0,70	1,63	0
CG/EM, IR	1027	EUCALIPTOL	0	0	0	0,50	0	1,49
CG/EM, IR	1040	CIS-OCIMENO	0	0	0	0	0	3,71
CG/EM, IR	1049	TRANS-OCIMENO	0,94	0	2,70	0	0	1,18
CG/EM, IR	1102	LINALOL	40,17	0,88	0	0	0	0
CG/EM, IR	1151	CITRONELAL	0,40	0	0	0	0	1,39
CG/EM, IR	1229	NEROL	0,29	0	0	0	0	0
CG/EM, IR	1231	CITRONELOL	22,40	0	0	0	0	0
CG/EM, IR	1242	NERAL	4,52	0	0	0	0	0
CG/EM, IR	1250	ISO-GERANIOL	1,19	0	0	0	0	0
CG/EM, IR	1254	GERANIOL	1,45	0	0	0	0	43,62

CG/EM, IR	1272	GERANIAL	7,79	0	0	0	0	1,56
CG/EM, IR	1326	GERANATO DE METILA	2,01	0	0	0	0	0,89
TOTAL			81,79	0,88	2,7	1,2		57,44
TOTAL IDENTIFICADO			96,38	92,03	93,9	87,97		89,51

Os valores apresentados na (%) são as medias calculadas com cinco repetições.

¹ID: Métodos de identificação: CG/EM, identificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; IR, identificação por comparação de índice de retenção em coluna DB-5 com NIST Mass Spec Data Center, NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <http://webbook.nist.gov>, Adams 2007 e Adams 1995.

²IR: Índice de Retenção

NI: Substância não identificada

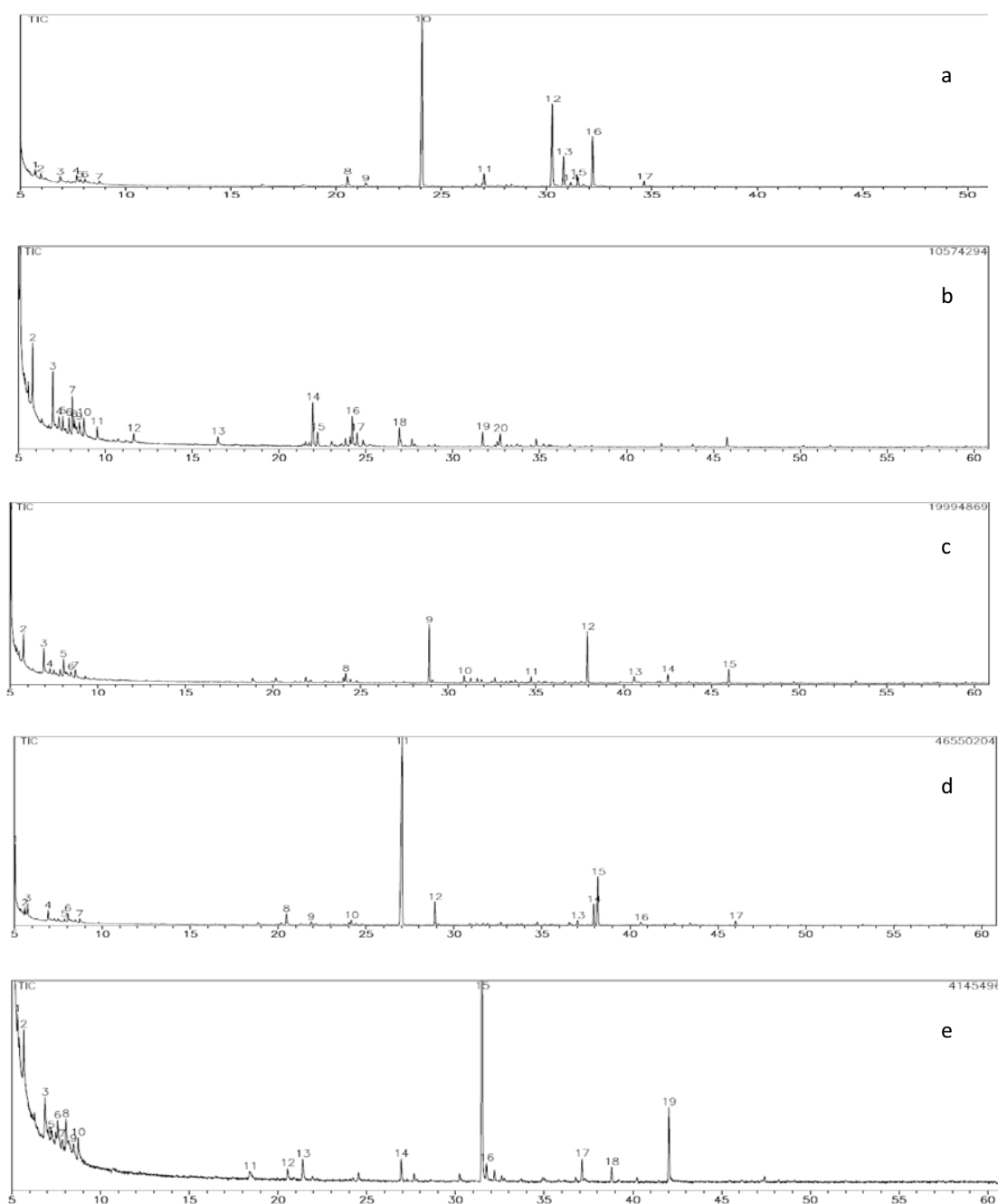


Figura 5. Cromatograma de íons totais das fragrâncias das espécies de *Passiflora*: (a) *P. alata*; (b) *P. cincinnata*; (c) *P. coccinea*; (d) *P. edulis*; (e) *P. quadrangularis*

4.3. Eficiência da amostragem, análises de similaridade e análises componentes principais

O gráfico da eficiência da amostragem apresentado na Figura 6. permite concluir que os CVs capturados no *headspace* das flores das cinco espécies estudadas foram amostrados satisfatoriamente. A curva no gráfico indica que o número de repetições realizadas constituiu uma amostragem eficiente (Figura 6). Segundo os resultados da distancia do coeficiente de correlação nas análises do dendograma de similaridade (Figura 7), *P. alata* e *P. quadragularis* apresentaram a maior similaridade (75%) entre si, explicado pela dominância e abundância de monoterpênos na constituição das fragrâncias destas espécies. Entretanto, *P. edulis* e *P. cincinnata* formaram outro grupo com 60% de similaridade, explicado pelo fato de apresentar grandes proporções de benzenóides e fenilpropanóides. *P. coccinea* esta localizada em posição intermediária aos dois grupos citados, já que a fragrância das flores desta espécie é principalmente constituída por substâncias alifáticas, algumas das quais também estão presentes nas outras espécies estudadas, com tendência a maior similaridade com o grupo de *P. edulis* e *P. cincinnata*. Nas análises de componentes principais o valor de 42% da variância foi explicado com os dois primeiros componentes (PC1 23% e PC2 19%). Cada espécie situou-se num grupo distinto (Figura 8). A presença de *P. cincinnata* e *P. coccinea* nos extremos do gráfico (Figura 8) foi, possivelmente, devido ao alto teor de benzaldeído (segunda substância majoritária e única de *P. cincinnata*) e um composto não identificado único em *P. coccinea* com índice de retenção 1468 e proporção relativa de 2,04%.

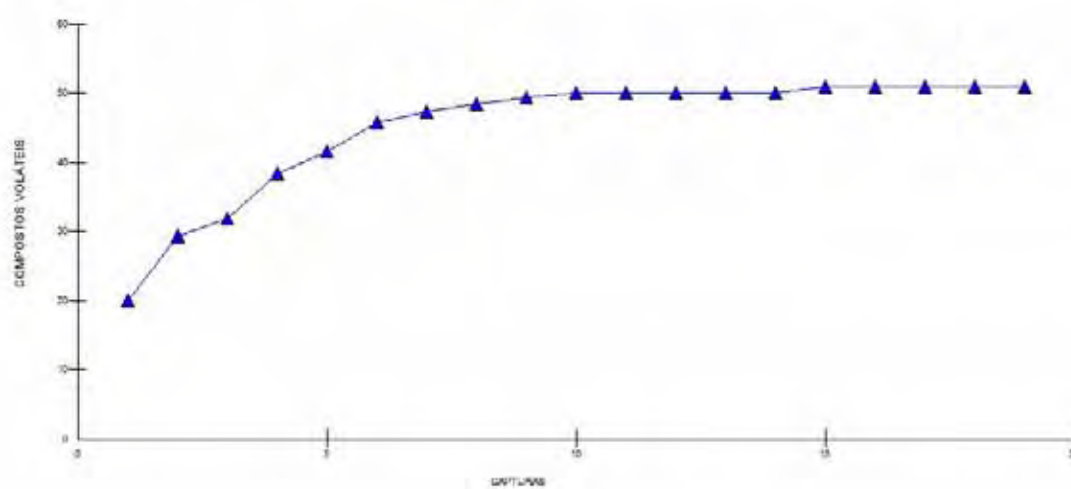


Figura 6. Eficácia da amostragem* das fragrâncias florais de *Passiflora*.

*Estabilidade na curva indica ampla amostragem e captura de aprox. 50 compostos voláteis nos *headspace* combinados das espécies estudadas.

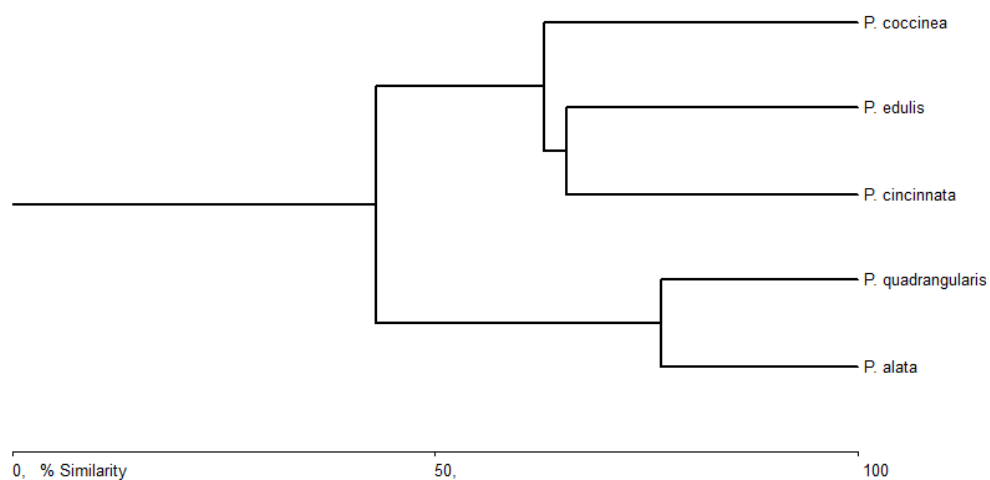


Figura 7. Dendograma da similaridade entre as fragrâncias das espécies de *Passiflora* segundo as classes de substâncias capturadas no *headspace* das flores.

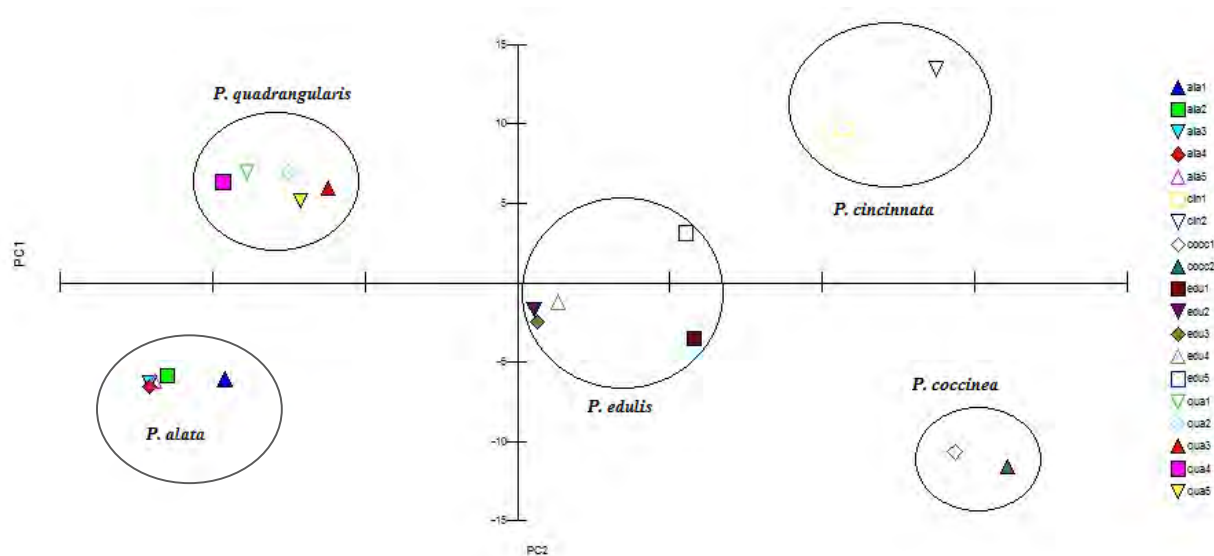


Figura 8. Análise de Componentes Principais tomando como variáveis as substâncias voláteis presentes nas fragrâncias das espécies estudadas de *Passiflora*. As figuras geométricas coloridas representam as repetições por espécie.

5. DISCUSSÃO

Os resultados referentes à biologia floral das espécies estudadas sugerem que existem diferenças e similaridades, dependendo da característica observada (Tabela 3). Todas as espécies apresentaram diferente distribuição no período de floração. Os primeiros botões florais apareceram em *P. edulis* e *P. coccinea*, seguidas por *P. cincinnata* e *P. alata*. A última espécie em florescer foi *P. quadrangularis*. Os tempos de crescimento vegetativo e o início da fase reprodutiva, o desenvolvimento dos botões florais e as outras características florais observadas em *P. edulis* e *P. alata* foram similares aos padrões do cultivo comercial, como Sousa e Meletti (1997) e Oliveira e Ruggerio (2005) têm reportado no Brasil. Isso pode ser explicado pelo fato destas espécies terem sido as mais submetidas ao melhoramento genético que também visa obter uniformidade nas plantações comerciais.

Para *P. cincinnata* os resultados no período de floração e no tamanho máximo dos botões florais foram parecidos com aqueles observados por Kill et al. (2010) e por Aponte e Jáuregui (2004), embora, diferentes em comparação com o reporte no trabalho de Oliveira e Ruggerio (2005), no qual o período de floração durou até o mês de maio e depois os autores não observaram formação de mais botões florais, provavelmente devido as diferenças nas condições ambientais entre as áreas de estudo. Em *P. coccinea* os resultados demonstraram que existe produção contínua de flores, inclusive durante os meses frios de dias curtos no inverno da região de Campinas (Brasil), como Junqueira et al. (2005) também notaram na região de Brasília. O número de flores produzidas concorda com os resultados de Storti (2002) em plantas de *P. coccinea* cultivadas na região do Amazonas. Como foi

reportado previamente por Avilan et al. (1989) e Haddad e Figueroa (1972) em *P. quadrangularis*, foi observado que as plantas apresentam poucas gemas com formação de botões florais e a maioria dos ramos permaneceram vegetativos. O tempo de desenvolvimento dos botões florais (13 dias, no presente trabalho) foi diferente se comparado com os 21 dias reportados por Haddad e Figueroa (1972). O número de flores e a distribuição do período de floração foi também semelhante com o observado por Kishore et al. (2010) para *P. quadrangularis* cultivada fora do seu centro de origem. A maior quantidade de flores produzidas foi observada em *P. edulis* e *P. alata*, porque são as espécies que têm sido submetidas ao processo de seleção mais intensivo em comparação com as outras passifloras, sendo já selecionadas para maior produtividade. Informação detalhada sobre morfologia floral, biologia reprodutiva, visitantes florais e polinizadores de espécies de *Passiflora* são apresentadas nos trabalhos de Jazen (1968), Amela-Garcia, Galati e Hoc (2007), Amela-Garcia e Hoc (1997, 1998), Varassin, Trigo e Sazima (2001) e Faria e Sttehmman (2010), embora, informações sobre o desenvolvimento dos botões florais e o período de floração comparada entre as espécies de *Passiflora* continua sendo escassa.

Segundo Amela-García, Galati e Hoc (2007) a biologia floral de aproximadamente 23 espécies de *Passiflora* tem sido estudada, embora mais de 525 espécies tem sido descritas (AMELA-GARCIA, 1999; MacDOUGAL; FEUILLET, 2004). Pelo menos 26 destas espécies produzem fragrâncias florais perceptíveis pelo olfato humano (FRANKIE; VINSON, 1977; SAZIMA; SAZIMA, 1978; GIRÓN Van DER HUCK, 1984; NEFF; ROZEN, 1995; KOSCHNITZKE; SAZIMA, 1997; AMELA-GARCÍA, 1999; LINDBERG KNUDSEN; OLESEN, 2000; KAY, 2001; VARASSIN; TRIGO; SAZIMA, 2001; APONTE; JÁUREGUI, 2004;). Até o ano de 2012, só os CVs de 12 espécies de *Passiflora* tinham sido capturados e identificados (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN, 2000; VARASSIN; TRIGO; SAZIMA, 2001). Provas olfativas das partes florais de nove espécies foram conduzidas, evidenciando que os odores que constituem as fragrâncias florais são emitidos por diferentes partes da flor, principalmente pelos filamentos da corona (radii) nos quais o tecido secretor rodeia todo o perímetro de cada um dos filamentos (AMELA-GARCÍA; GALATI; HOC, 2007). Ausência de fragrâncias tem sido reportada para sete espécies incluindo *P. edulis* (VANDERPLANK, 1996; KOSCHNITZKE; SAZIMA, 1997; AMELA-GARCÍA, 1999,

AMELA-GARCIA; GALATI; HOC, 2007). Contrariamente, no presente estudo se comprovou que *P. edulis* apresenta uma fragrância intensa, rica em compostos de tipo benzenóides, característicos da polinização por melitofilia (mamangabas).

A complexidade dos componentes florais nas espécies de *Passiflora* pode variar muito dependendo dos visitantes florais e na função exercida (e.x. barreira contra “ladrões” de néctar, atraente visual e/ou olfativo para polinizadores, superfície de “aterrissagem” para as abelhas, etc.). No trabalho de Lindberg, Knudsen e Olesen (2000) foi observada uma correlação positiva entre a quantidade total de benzenóides presentes no *headspace* das flores de *Passiflora* e o tamanho da corona. Entretanto, MacDougal (1994) demonstrou que a corona é o principal tecido secretor de fragrância nas flores de *Passiflora*, embora as pétalas e sépalas também apresentem tecidos secretores da fragrância floral.

Dentro das passifloras existe vasta literatura dos casos de espécies polinizadas por aves (SNOW; SNOW 1980; SNOW, 1982; VARASSIN; TRIGO; SAZIMA 2001), morcegos (SAZIMA; SAZIMA, 1978), mamangabas (JANZEN, 1968; GOTTSBERGER; CAMARGO; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, 1988; MELETTI; OLIVEIRA; RUGGIERO, 2010) e em algumas ocasiões polinização por vespas tem sido observada (MacDOUGAL 1994; KOSCHNITZKE; SAZIMA, 1997). As flores de *Passiflora* podem ser facilmente catalogadas dentro dos respectivos grupos (síndromes) de polinização, em função da morfologia floral e outras características mais específicas, como o tipo de fragrância floral emitida e o horário de antese. As passifloras polinizadas pelas aves abrem as flores durante o dia, as quais normalmente são de coloração vermelhas até rosa, com um profundo tubo floral e sem fragrância perceptível para os humanos. As espécies polinizadas por morcegos geralmente têm flores brancas que abrem a noite e produzem uma fragrância sutil. Muitas espécies de *Passiflora* são polinizadas por himenópteros e neste grupo de espécies pode se achar variações nas formas, tamanhos e cores das flores, as quais regularmente são brancas, roxas ou azuis e apresentam fragrâncias florais marcantes (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN, 2000).

Nas plantas ornitófilas as guias visuais são muito mais importantes que a produção de fragrância na atração dos polinizadores. Neste sentido, as passifloras

polinizadas por aves, como *P. coccinea*, normalmente apresentam coronas com filamentos curtos, largos e verticais que protegem o néctar armazenado no opérculo, assim como flores vermelhas não perfumadas (ou com fragrâncias muito tênues sem função na polinização). Em concordância, foi observado que as flores de *P. coccinea* apresentaram uma fragrância muito sutil, quase imperceptível, constituída principalmente por substâncias alifáticas presentes também nas partes vegetativas, mais relacionadas com atração e recrutamento de formigas e outros insetos benéficos para proteger a planta da herbívora. Também foi evidenciado que a corona de *P. coccinea* constituiu uma barreira muito eficaz contra o roubo de néctar por parte dos insetos. Desta forma, as formigas recrutadas pelas plantas de *P. coccinea* aproveitam só os recursos secretados pelos nectários extraflorais na base das sépalas e pedicelos das folhas, deixando intacto o néctar da flor para os beija-flores, os quais estão perfeitamente adaptados para penetrar a corona e realizar a polinização eficientemente. Isso foi demonstrado por Varassin, Trigo e Sazima (2001) no caso de *P. speciosa*, espécie muito similar à *P. coccinea*. Entretanto, muitas das passifloras polinizadas por abelhas apresentam coronas extremamente fragrantas, com numerosos filamentos mais curtos no centro do opérculo, que junto com os filamentos mais compridos da corona, contribuem com a difusão da fragrância que a flor emite. A confluência no centro da flor constitui não só uma guia visual, mas também olfativo para os polinizadores. As espécies estudadas nesta pesquisa correspondentes nesta categoria são *P. edulis*, *P. alata*, *P. quadrangularis* e *P. cincinnata*.

Em concordância com Lindberg, Knudsen e Olesen (2000), as fragrâncias das flores de *Passiflora* estudadas nesta pesquisa têm substâncias voláteis das principais rotas biossintéticas do metabolismo especializado das plantas. Muitas destas substâncias também são comuns nas fragrâncias florais e emitidas pelas partes vegetativas de outras espécies (KAISER, 1993; KNUDSEN; TOLLSTEN; BERGSTRÖM, 1993; KNUDSEN et al., 2004). Entre os CVs das partes vegetativas das espécies estudadas de *Passiflora* foram identificados: heptano, decano, undecano, dodecano, tetradecano, metil isobutil cetona, 3-hexil-hidroperóxido, acetato de alila e *trans*-cinamato de metila. Em comparação, os CVs identificados por Lindberg, Knudsen e Olesen. (2000) em *P. ligularis*, *P. riparia* e *P. maliformis*, entre outras espécies de *Passiflora*, também foram identificados dentro das fragrâncias florais das espécies estudadas na presente pesquisa as seguintes

substâncias: benzaldeído, segundo composto majoritário em *P. cincinnata*; álcool benzílico, presente nas fragrâncias de *P. alata*, *P. edulis* e *P. quadrangularis*; o 1,2,5-trimetoxibenzeno, importante constituinte da fragrância de *P. edulis*; o citronelol, segunda substância mais abundante na fragrância de *P. alata*; o linalol, majoritário na fragrância de *P. alata*, também presente nas fragrâncias de *P. quadrangularis* e *P. cincinnata*; o *trans*-ocimeno presente nas fragrâncias de *P. alata*, *P. coccinia* e *P. quadrangulares*; os monoterpenos mirceno, nerol, neral, geraniol e geranial, importantes constituintes das fragrâncias de *P. alata* e *P. quadrangularis*.

Cada uma das espécies estudadas apresentou uma fragrância própria, única e característica, graças à sua composição química, proporção relativa e abundância de CVs. Pesquisas anteriores, no tema da ecologia e dinâmica da polinização tem sugerido que as fragrâncias florais são importantes na sinalização para os polinizadores, funcionando diretamente no isolamento reprodutivo entre espécies (LINDBERG; KNUDSEN; OLESEN, 2000). As espécies com fragrâncias diferentes atraem distintos polinizadores evitando assim a competição e o risco de hibridação natural por polinização interespecífica. Espécies com fragrâncias similares poderiam sofrer competição pelos agentes polinizadores, resultando em menor e da polinização.

As fragrâncias das flores certamente evoluíram para contribuir no sucesso da reprodução sexual das plantas. A humanidade também tem reconhecido prazer na sensualidade vegetal desde tempos imemoriais. A admiração do homem pelas fragrâncias de flores rapidamente transformou estas substâncias voláteis em uma *commodity* de alto impacto social e comercial. Atualmente, as fragrâncias são produzidas sinteticamente, mas também algumas naturais são muito utilizadas na fabricação de perfume, cosméticos, difusores de ambiente, produtos de limpeza, nas indústrias de alimentos e bebidas (SCHILLIN; KAISER; NATSCH, 2010).

Segundo Schilling, Kaiser e Natsch (2010), a análise de compostos voláteis de flores, madeiras, frutos, ervas e especiarias de todo o mundo foram estabelecidos como um elemento essencial, fonte de inspiração na criação de fragrâncias e perfumes. De fato, as técnicas modernas da química analítica têm permitido a captura, análise e

reconstituição de um grande número de aromas florais que foram apresentados para perfumistas como estímulo e motivação para criar novas fragrâncias, bem como perfumes e outros produtos de consumo baseados nos aromas da natureza. Durante os últimos 30 anos, mais de 2.500 aromas selecionados foram exaustivamente investigados nos denominados *ScentTrek*[™] conduzidos principalmente por grandes indústrias multinacionais. Uma visão profunda destes *ScentTrek*[™] e suas implicações é fornecida por Kaiser (2006). Entretanto, a passar do enorme número de espécies, até o dia de hoje as passifloras tem recebido pouca atenção neste sentido, com exceção de análises esporádicos das fragrâncias naturais dos frutos de algumas destas espécies, embora as fragrâncias florais têm sido pouco pesquisadas. Os resultados no presente trabalho demonstraram que as fragrâncias das espécies estudadas apresentam grande diversidade intraespecífica, assim como interessante potencial na indústria da perfumaria. As análises conduzidas revelaram que as fragrâncias de algumas destas espécies são altamente promissoras, devido à exótica composição de notas doces, frutais e cremosas, largamente desejadas na elaboração de perfumes e produtos cosméticos. Desta forma, as fragrâncias naturais das flores de *Passiflora* tem altíssimo potencial na indústria cosmetologia e da perfumaria devido a sua variada composição química, rica em compostos aromáticos tais como monoterpenos (*P. alata* e *P. quadrangularis*) e benzenóides e fenilpropanóides (*P. edulis* e *P. cincinnata*), além da crescente demanda de novos produtos de origem natural associado ao fato do Brasil ser o maior consumidor de perfumes do mundo com faturamento de US\$ 6 bilhões em 2010 (ABIHPEC, 2010).

6. CONCLUSÕES

A floração dos maracujazeiros sob ambiente protegido foi diferente para cada espécie estudada, as espécies comerciais (*P. edulis* e *P. alata*) produziram a maior quantidade de flores no período, enquanto *P. coccinea* e *P. cincinnata* apresentaram, períodos de floração mais longos. *P. coccinea* produziu flores continuamente, inclusive no inverno e sob condições de fotoperíodo curto, diferentemente das demais.

Com a determinação dos perfis químicos das fragrâncias florais das cinco espécies estudadas, conclui-se que *P. alata* e *P. quadrangularis* com linalol e geraniol como substâncias majoritárias, respectivamente, são ricas em monoterpenos de notas cítricas e frutais e aroma intenso: *P. edulis* e *P. cincinnata* são ricas em benzenóides com 1,4-dimetoxibenzeno e benzaldeído como substâncias majoritárias, respectivamente, e notas balsâmicas e florais. Por sua vez, *P. coccinea* possui uma fragrância muito sutil, constituída principalmente por substâncias alifáticas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Do ponto de vista da perfumaria, a espécie *P. alata* apresentou o maior potencial para fins comerciais, devido à riqueza de monoterpenos, o alto teor de linalol (composto majoritário) e à exóticidade da fragrância, uma mistura de notas cítricas, frutais e florais, bastante apreciada nos produtos cosméticos e perfumes. Futuras pesquisas relacionadas com a produção industrial da fragrância por métodos de extração ou síntese deverão ser abordados, assim como a continuação da amostragem e caracterização das fragrâncias florais de outras passifloras não pesquisadas.

8. REFERÊNCIAS

ABIHPEC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. **Panorama do setor, dados do mercado 2010**. Disponível em: http://www.abihpec.org.br/dadosdomercado_panorama_setor.php. Acesso em: 30 ago. 2011.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gás Cromatography mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing, Corp, 1995. 456p.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.Ed. Carol Stream: Allured Publishing, Corp, 2007. 803p.

AMELA-GARCIA, M. T. A.; HOC, P. S. Floral biology and reproductive system of *Passiflora caerulea* (Passifloraceae). **Beitraege zur Biologie der Pflanzen**, Wroclaw, v.70, p. 1–20, 1997.

AMELA-GARCIA M. T. A.; HOC, P. S. Biología floral de *Passiflora foetida* (Passifloraceae). **Revista de Biología tropical**, San Jose, v. 46, n. 2, p. 191-202, 1998.

AMELA-GARCIA, M.T. **Biología floral y sistema reproductivo de especies nativas de *Passiflora* (Passifloraceae) de la Argentina**. 1999. >90 f. Tesis (Doctorado) - Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, 1999.

AMELA-GARCÍA, M. T.; GALATI, B.; HOC, P. Ultrastructure of the corona of scented and scentless flowers of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). **Flora**, Jena, v. 202, p. 302–315, 2007.

APONTE, Y.; JÁUREGUI, D. Algunos aspectos de la biología floral de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad de Zulia**, Zulia, v. 21, n. 3, p. 211- 219, 2004.

AVILÁN, L.; LEAL, F.; BAUTISTA, D. **Manual de Fruticultura**. Editorial América. Caracas. 1989, 1475p.

BARROS N. A. L. **Análise de Perfumes**. 2007. 66f. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia) - Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

BICCHI, C. et al. Headspace sampling of the volatile fraction of vegetable matrices Review. **Journal of Chromatography A**, New York, v.1184, p.220–233, 2008.

COSTA, A. M.; TUPINAMBÁ, D. D. O maracujá e suas propriedades medicinais. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005 cap. 20, p.475-506.

DHAWAN, K; DHAWAN, S; SHARMA, A. *Passiflora* a review uptdate. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 94, p. 1-12, 2004.

FARIA, F. S.; STEHMANN, J. R. Biologia reprodutiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (*Decaloba*, Passifloraceae). **Acta Botanica Brasílica**, Feira de Santana, v. 24, n. 1, p. 262-269, 2010.

FALEIRO, F. G; JUNQUEIRA, N. T. V; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. 670p.

FERREIRA, F. R. Recursos genéticos de *Passiflora*. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 41-50.

FRANKIE, G. W.; VINSON, S. B. Scent marking of passion flowers in Texas by females of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera: Anthophoridae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, Kansas, v. 50, p. 613–625, 1977.

GALVÃO, M. et al. Compostos voláteis dos frutos de maracujá (*Passiflora edulis* forma *Flavicarpa*) e de cajá (*Spondias mombin* L.) obtidos pela técnica de *headspace* dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 212-216, 2004.

GIRÓN Van DER HUCK, M. **Biología floral de tres especies de *Passiflora***. 1984. >50 f. Trabajo de grado (Biología) - Universidad. de Antioquía, Medellín, 1984.

GOTTSBERGER, G.; CAMARGO, J. M. F.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. A bee-pollinated tropical community: The beach dune vegetation of Ilha de São Luís, Maranhão, Brazil. **Botanische Jahrbücher in Systematik**, Schweizerbart, v. 109, p. 469-500, 1998.

HADDAD, O.; FIGUEROA, M. Estudio de la floración y fructificación en parcha granadina *P. quadrangularis* L. **Agronomia Tropical**, Maracay, v. 22, n. 5, p.483-496, 1972.

HARLALKA, R. H. Solid Phase Micro-extraction and Headspace Trapping Extraction. In: HANDA, S. S.; KHANUJA, S. P. S.; LONGO, G.; RAKESH, D. D. **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants**. Trieste: International Centre For Science And High Technology, 2008. p. 145-167.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal: Culturas Temporárias e Permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. v.37, p.1-91.

JÁUREGUI, D.; GARCÍA, M. Morfoanatomía de las glándulas en cuatro especies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) de Venezuela. **Caldasia**, Bogota, v.24, n.1, p. 3-40, 2002.

JANZEN, D. H. Reproductive behavior in the Passifloraceae and some of its pollinators in Central America. **Behaviour**, v. 32, p. 33-48, 1968.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p 81-107.

KAISER R. Trapping, investigation and reconstitution of lower scents. In: Müller, P. M, Lamparsky, D. (Eds). **Perfumers: Art, Science & Technology**. Oxford: Elsevier Applied Sciences, 1991. p. 213–250.

KAISER, R. **The scent of orchids – olfactory and chemical investigations**. Amsterdam: Elsevier, 1993. 260p.

KAISER, R. Vanishing flora- Lost chemistry: The scents of endangered plants around the world, **Chemistry and Biodiversity**, Zürich, v. 1, p. 13–27, 2004.

KAISER, R. **Meaningful scents around the world: olfactory, chemical, biological, and cultural considerations**. Zürich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2006. 304p.

KAY, E. Observations on the pollination of *Passiflora penduliflora*. **Biotropica**. Washington, v. 33, p. 709–713, 2001.

KIILL, L. H. P. et al. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brasil). **Oecologia**, Berlin, v. 14, n. 1, p. 115-127, 2010.

KISHORE, K. K. A.; PATHAK, R. S.; BHARALI, R. Studies on floral biology of passion fruit (*Passiflora* spp.). **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 42, n. 1, p. 21-29, 2010.

KNUDSEN, J. T.; TOLLSTEN, L.; BERGSTRÖM, L. G. Floral scents - A checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. **Phytochemistry**, New York, v. 33, p. 253-280, 1993.

- KNUDSEN, J. T. et al. Diversity and distribution of floral scent. **The Botanical Review**, Bronx, v. 72, p. 1–120, 2006.
- KNUDSEN, J. T. et al. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in hummingbird-pollinated taxa. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 146, p. 191–199, 2004.
- KOSCHNITZKE, C.; SAZIMA, M. Biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) em mata semidecídua, **Revista Brasileira Botanica**, São Paulo, v. 20, p. 119–126, 1997.
- LINDBERG, A. B.; KNUDSEN, J. T.; OLESEN, J. M. Independence of floral morphology and scent chemistry as trait groups in a set of *Passiflora* species. **Det Norske Videnskaps – Akademi. I. Matematisk Naturvidenskapelige Klasse**, Oslo, v. 39, p. 91–111, 2000.
- MacDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, Delawer, v. 41, p. 1–146, 1994.
- MacDOUGAL, J. M.; FEUILLET, C. Systematics. In: Ulmer T, MacDougal J. M. (eds.). **Passiflora. Passionflowers of the World**. Cambridge: Timber Press, 2004. p. 27–31.
- MARQUEZ, M.O.; TOLEDO, R. Óleos essenciais. História e sua importância para a indústria de perfumaria. **Revista Eletrônica de Jornalismo Científico**, Ciência, v. 91. 2007. Disponível em: <http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=28&id=327>. Acesso em: 30 ago. 2011.
- MARTIN, F.W.; NAKASONE, H. Y. The edible species of *Passiflora*. **Economic Botany**. New York, v. 24, n. 3, p. 333–343, 1970.
- MATA G. V., GOMES B. P., RODRIGUES E. A. Engineering Perfumes. **American Institute of Chemical Engineers Journal**, v. 51, n. 10, p. 2839–2852, 2005.
- MELETTI, L. M. M.; OLIVEIRA J.C; RUGGIERO, C. **Maracujá**. Jaboticabal: Funep, 2010. 55p. (Série Frutas Nativas, 6).
- NEFF, J. L.; ROZEN, J. G. Foraging and nesting biology of the bee *Anthemurgus passiflorae* (Hymenoptera: Apoidea), descriptions of its immature stages, and observations on its floral host (Passifloraceae). **American Museum Novitates**, New York, v. 3138, p. 1–19, 1995.
- OCAMPO, J. et al. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, Bogota, v.8, n.1, p.1–45, 2007.
- OCAMPO, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; JARVIS, A. Distribution of the Genus *Passiflora* L.: Diversity in Colombia and its Potential as an indicator for biodiversity management in the coffee growing zone. **Diversity**, Basel, v. 2, p. 1158–1180, 2010.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de Maracujá com potencial agrônômico. In FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds). **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p.141-158.

PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 62, p. 2145- 2148, 1990.

PONTES, M; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-quadrupole mass spectrometric methodology for the establishment of the volatile composition of *Passiflora* fruit species. **Microchemical Journal**, New York, v. 93, p. 1–11, 2009.

SAZIMA, M., SAZIMA, I. Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata* in southeastern Brazil. **Biotropica**, Washington, v. 10, p. 100–109, 1978.

SCHILLING, B.; KAISER, R.; NATSCH, A. Investigation of odors in the fragrance industry. **Chemoecology**, Basel, v. 20, p. 135–147, 2010.

SNOW, A. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. **Oecologia**, Berlin, v. 55, p. 231- 37, 1982.

SNOW, D. W.; SNOW, B. K. Relationship between hummingbirds and flowers in the Andes of Colombia. **Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)**, London, v. 38, p. 105-139, 1980.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. FEALQ: Piracicaba, 1997. 179p.

STORTI, E. F. Biologia da polinização e sistema reproductivo de *Passiflora coccinea* Aubl. em Manaus, Amazonas Brasil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 32, p. 421-429, 2002.

TERANISHI, R.; KINT, S. **Bioactive volatile compounds from plants an overview**. Washington: American Chemical Society, 1993. cap. 1, p. 1-5. (ACS Symposium Series).

TRONSON, D. The odour, the animal and the plant. **Molecules**, v. 6, p. 46-116, 2001.

ULMER, T.; MacDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the world**. Timber press: Cambridge, 2004. p.16-240.

Van DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography, **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-467, 1963.

VANDERPLANK, J. *Passiflora quadrifaria*. **Curtis Botanical Magazine**, London, v. 13, p. 63–69, 1996.

VAN RUTH, S. M. Aroma measurement: Recent developments in isolation and characterization. In: Cuyper, M. de.; Bulte, J. W. M. (Eds.). **Physics and Chemistry Basis of Biotechnology**. Dordrecht: Academic Publishers, 2001. p.305–328.

VARASSIN, I. G; TRIGO, J. R; SAZIMA, M. The role of nectar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 136, p. 139–152, 2001.

VIEIRA, M. A. R. Caracterização dos ácidos graxos das sementes e compostos voláteis dos frutos de espécies do gênero *Passiflora*. 2006. 71f. Dissertação (mestrado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. 2006.

WERKHOFF, P.; GUTHERT, G.; KRAMMER, H.; SOMMER.; KAULEN. J. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.46, n. 3, p. 1076-1093, 1998.