CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE *Fusarium* sp. VISANDO À PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS NATURAIS ANTIFÚNGICOS.

Solânia Gabriela Isídio do Nascimento [1]
Antheógenes Menezes da Silva [2]
Clécio Florêncio de Queiroz [3]
Eliana Santos Lyra da Paz [4]
Francisco Braga da Paz Júnior [5]

INTRODUÇÃO

O gênero *Fusarium* compreende fungos amplamente distribuídos em diferentes ambientes e de reconhecida importância fitopatológica, estando associado a doenças capazes de comprometer o desenvolvimento vegetal e reduzir a produtividade agrícola. O manejo desses organismos tem sido realizado, em grande parte, por meio de fungicidas químicos convencionais. Entretanto, o uso desses agentes pode estar relacionado a impactos ambientais, toxicidade para seres humanos e organismos não alvo, além da seleção de populações resistentes, o que evidencia a necessidade de buscar estratégias alternativas e mais sustentáveis para o controle de fitopatógenos (JOSHUA; MMBAGA, 2020).

Nesse contexto, substâncias de origem vegetal vêm recebendo atenção devido à diversidade de metabólitos secundários e ao potencial de aplicação no manejo de microrganismos de interesse agrícola. Extratos e óleos essenciais apresentam diferentes propriedades biológicas, incluindo efeitos antimicrobianos e antifúngicos, sendo investigados como possíveis fontes de bioativos para aplicações agrícolas (GOMES FILHO; SANTOS; AMORIM, 2020; CARNEIRO et al., 2024). Entre as espécies de

[1] Estudante Técnico do Instituto Federal de Pernambuco - IFPE, sgin@discente.ifpe.edu.br;
[2] Mestre, Instituto Federal de Pernambuco - IFPE, antheogenesmenezes@recife.ifpe.edu.br;
[3] Pesquisador do Instituto de Pesquisa Agronômica - IPA, queiroz.clecio@ipa.br;
[4] Doutora, Universidade de Pernambuco - UPE, eliana.lyra@upe.br;
[5] Doutor, Instituto Federal de Pernambuco - IFPE, franciscobraga@recife.ifpe.edu.br.
Este resumo expandido é resultado de um projeto de pesquisa financiado pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

ISSN: 2358-8829

interesse destaca-se a laranjeira, *Citrus sinensis* L., cujas cascas apresentam uma composição rica em substâncias de interesse biológico e podem representar uma alternativa para o aproveitamento de resíduos agroindustriais (YOHANES et al., 2023). Estudos com derivados dessa espécie também apontam propriedades antimicrobianas, além de possibilidades de aplicação em sistemas que favorecem sua estabilidade e dispersão (SOUZA et al., 2021; ORSO et al., 2022). Esses aspectos tornam a caracterização química relevante para a identificação de moléculas que possam apresentar interesse biológico.

Embora estudos apontem propriedades antimicrobianas e antifúngicas associadas a constituintes de espécies do gênero *Citrus*, seu potencial biológico depende de fatores como a composição química do material vegetal e as características do microrganismo-alvo. Nesse contexto, a prospecção de compostos naturais constitui uma etapa relevante para identificar substâncias de interesse e orientar novas investigações voltadas ao manejo de fitopatógenos. Estudos como o de Sousa et al. (2023), que investigaram a ação de óleos essenciais contra a podridão causada por *Fusarium* em melão, demonstram a pertinência de explorar fontes vegetais na busca por alternativas para o controle de doenças agrícolas. Entretanto, a investigação de diferentes derivados de uma mesma espécie vegetal, como o extrato bruto e o óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* L., associada à caracterização do fungo-alvo, contribui para ampliar o conhecimento sobre os materiais estudados e estabelecer bases para avaliações biológicas posteriores.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo prospectar compostos naturais de interesse antifúngico a partir do extrato bruto e do óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* L., por meio da caracterização química desses materiais por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) e da identificação morfológica de *Fusarium* sp.. Ao integrar essas abordagens, a pesquisa busca gerar informações que subsidiem estudos posteriores sobre a atividade antifúngica dos derivados vegetais e sua possível aplicação no desenvolvimento de estratégias alternativas para o manejo de fitopatógenos.

ISSN: 2358-8829

METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida nos laboratórios do Instituto Federal de Pernambuco (IFPE) – *Campus* Recife, tendo como material botânico cascas de frutos de *Citrus sinensis* L. visualmente sadios, sem sinais aparentes de podridão ou danos mecânicos. As amostras foram destinadas à obtenção de extrato bruto e óleo essencial, enquanto o isolado de *Fusarium* sp. utilizado na pesquisa foi proveniente do Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA).

Para obtenção do extrato bruto, 90 g das cascas foram fragmentadas manualmente e submetidas à maceração a frio em 190 mL de etanol 70%, durante 15 dias, à temperatura ambiente, com agitação diária. Após esse período, o material foi filtrado em papel de filtro, acondicionado em frascos de vidro âmbar e mantido sob refrigeração até sua utilização, seguindo procedimento baseado em Yohanes et al. (2023). Para obtenção do óleo essencial, 140 g de cascas foram submetidas à hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, utilizando 4.500 mL de água destilada e aquecimento por aproximadamente 2 h e 30 min, conforme adaptação da metodologia descrita por Durán Aguirre et al. (2020). A fase oleosa obtida foi separada, tratada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para remoção da umidade residual e armazenada em frasco de vidro âmbar.

A caracterização química do extrato bruto e do óleo essencial foi realizada por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Utilizou-se cromatógrafo Agilent Technologies 7890B acoplado a espectrômetro de massas Agilent Technologies 5977B, com coluna capilar HP-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e hidrogênio como gás de arraste. A identificação dos constituintes foi realizada mediante comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massas obtidos com os registros disponíveis na biblioteca Wiley/NBS, conforme metodologia apresentada por Salgueiro e Castro (2016).

O isolado de *Fusarium* sp. foi mantido em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), a 27 ± 2 °C, com repiques sucessivos para manutenção de colônias jovens e viáveis. A caracterização macromorfológica considerou aspectos como textura, crescimento micelial e coloração do anverso e do reverso das colônias, com base nos critérios descritos por Samson, Hoekstra e Frisvad (2004) e Singh et al. (1991). Para a análise

ISSN: 2358-8829

micromorfológica, foi empregada a técnica de microcultivo em lâmina, conforme Riddell (1950), permitindo a observação de hifas, conidióforos, fiálides, macroconídios, microconídios e possíveis clamidósporos, com auxílio de microscopia.

Os dados obtidos nas etapas de caracterização química e morfológica foram organizados e analisados de forma descritiva, relacionando o perfil dos constituintes identificados no extrato e no óleo essencial às características morfológicas observadas no isolado fúngico. A abordagem adotada teve caráter prospectivo, buscando identificar compostos presentes em *C. sinensis* com potencial interesse para estudos posteriores de atividade antifúngica.

Por se tratar de pesquisa experimental com material vegetal e microrganismo fitopatogênico, sem participação de seres humanos ou animais, não houve necessidade de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos ou Comissão de Ética no Uso de Animais. As imagens produzidas durante as etapas experimentais foram de autoria dos pesquisadores, sendo utilizadas para fins de documentação e divulgação científica da pesquisa.

ISSN: 2358-8829

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção dos derivados vegetais e caracterização química

A extração das cascas de *Citrus sinensis* L. possibilitou a obtenção de dois derivados vegetais: o extrato bruto alcoólico, obtido por maceração a frio, e o óleo essencial, extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger. O extrato apresentou coloração esverdeada e odor cítrico característico, enquanto a obtenção do óleo essencial apresentou rendimento de 1,4% (v/m), correspondente a 0,014 mL por grama de material vegetal. Esse valor foi superior ao rendimento de aproximadamente 0,44% relatado por Pinto et al. (2024), embora diferenças nas condições de extração, nas características da matéria-prima e na eficiência do processo possam influenciar os valores obtidos.

A obtenção de derivados por métodos distintos de extração é relevante para a prospecção, pois permite investigar materiais com perfis químicos potencialmente diferentes. Enquanto a hidrodestilação é empregada para recuperar a fração volátil do material vegetal, a maceração alcoólica possibilita a extração de substâncias solúveis no solvente utilizado. Dessa forma, a análise conjunta do extrato bruto e do óleo essencial amplia a caracterização química das cascas de laranja e fornece informações para orientar estudos posteriores sobre seus constituintes.

A análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) identificou o D-limoneno como constituinte majoritário nas duas amostras, correspondendo a 77,92% da área relativa dos picos cromatográficos do extrato bruto e a 69,71% da área relativa do óleo essencial. Os tempos de retenção foram de 12,916 e 12,876 minutos, respectivamente. Também foram identificados β-mirceno e α-pineno em ambos os materiais, enquanto o linalol foi identificado no óleo essencial.

No extrato bruto, o β-mirceno correspondeu a 2,04% da área relativa dos picos e o α-pineno, a 0,56%. No óleo essencial, esses constituintes representaram 1,40% e 0,30%, respectivamente, enquanto o linalol correspondeu a 1,16%. As diferenças observadas nas proporções relativas dos compostos evidenciam que os materiais obtidos apresentam perfis cromatográficos distintos, apesar da predominância de um mesmo constituinte. É importante destacar que essas porcentagens correspondem à área relativa

ISSN: 2358-8829

dos picos cromatográficos, não devendo ser interpretadas diretamente como concentrações absolutas dos compostos.

A predominância do D-limoneno está de acordo com estudos sobre a composição química de derivados das cascas de laranja, nos quais esse monoterpeno também é frequentemente identificado como constituinte majoritário, embora sua proporção possa variar entre amostras (SIQUEIRA et al., 2020). Do ponto de vista da prospecção, a identificação de constituintes como D-limoneno, β-mirceno, α-pineno e linalol fornece informações relevantes para a seleção de materiais vegetais destinados a investigações de atividade biológica.

Caracterização morfológica de *Fusarium* sp.

A caracterização macromorfológica do isolado fúngico cultivado em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) revelou, após cinco dias de incubação, uma colônia com aproximadamente 55 mm de diâmetro, textura algodonosa e coloração predominantemente rosada a violácea na região central, com bordas creme-esbranquiçadas. No reverso da colônia, observou-se coloração predominantemente creme.

A análise micromorfológica, realizada por meio da técnica de microcultivo em lâmina, permitiu observar hifas hialinas e septadas, macroconídios alongados, multicelulares e com extremidades afiladas, apresentando formato semelhante ao de uma foice, além de microconídios menores, com formato ovalado a elipsoidal. O conjunto dessas características é compatível com descrições morfológicas do gênero *Fusarium*, conforme os critérios apresentados por Singh et al. (1991) e Samson et al. (2004).

A associação entre as características macroscópicas e microscópicas contribuiu para a caracterização do isolado no nível de gênero, fornecendo informações sobre o material biológico considerado na pesquisa. Essa etapa é importante em estudos de prospecção, uma vez que a caracterização adequada do microrganismo-alvo permite delimitar o organismo de interesse e estabelecer uma base metodológica para investigações posteriores.

ISSN: 2358-8829

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação permitiu reconhecer o D-limoneno como principal constituinte químico do extrato bruto e do óleo essencial de *Citrus sinensis* L., além de registrar características morfológicas compatíveis com o gênero *Fusarium*. Esses achados ampliam o conhecimento sobre os materiais analisados e oferecem subsídios para o direcionamento de novas pesquisas.

Embora a composição química identificada justifique o aprofundamento das investigações, o potencial antifúngico dos derivados vegetais ainda requer avaliações específicas. Portanto, o estudo representa uma etapa inicial na busca por substâncias de origem vegetal que possam contribuir para o desenvolvimento de alternativas no manejo de doenças agrícolas.

Palavras-chave: monoterpenos; cromatografia gasosa-espectrometria de massas; fitopatógenos; produtos bioativos; biocontrole.

ISSN: 2358-8829

REFERÊNCIAS

CARNEIRO, J. S. S. A. *et al.* Atividade antifúngica e antibiofilme do óleo essencial de melaleuca frente à espécie de *Candida*. **Revista Caderno Pedagógico**, Curitiba, v. 21, n. 11, p. 1–19, 2024.

DURÁN AGUIRRE, C. E. *et al.* Actividad insecticida de aceites esenciales sobre *Helicoverpa armígera*. **Idesia (Arica)**, Arica, v. 38, n. 4, p. 59–64, 2020.

FARHAT, A. *et al.* Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, v. 125, p. 255–261, 2011.

GOMES FILHO, J.; SANTOS, E. B.; AMORIM, E. P. Controle da fusariose em pimenta-do-reino com extratos brutos aquosos e fungicida. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 1, p. 49–52, 2020.

JOSHUA, J.; MMBAGA, M. T.. Potential biological control agents for soil-borne fungal pathogens in snap bean farms in Tennessee. **HortScience**, v. 55, n. 7, p. 988–994, 2020.

ORSO, V. T. *et al.* Obtenção e caracterização do óleo essencial de *Citrus sinensis* 'Valencia'. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, 2022.

PINTO, R. T. *et al.* Extraction of essential oils from sweet orange and lemongrass, and the development of air fresheners as an approach to experimentation and contextualization in organic chemistry education. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 13, n. 2, e10213245093, 2024.

RIDDELL, R. W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v. 42, n. 2, p. 265–270, 1950.

SALGUEIRO, L.; CASTRO, A. *GC-MS analysis of essential oils: methodology and applications*. Lisboa: Universidade de Lisboa, 2016.

SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C. *Introduction to food-borne fungi*. 7. ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2004.

SINGH, K.; FRISVAD, J. C.; THRANE, U.; MATHUR, S. B. *An illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins*. Hellerup: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, 1991.

SIQUEIRA, M. F. F. *et al*. *Extração e composição do óleo essencial de cascas de Citrus de diferentes estádios de maturação*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE SEGURANÇA ALIMENTAR**, 7., 2020, Bento Gonçalves, RS. **Anais do 7º Simpósio de Segurança Alimentar**. Bento Gonçalves: Congresso Brasileiro de Segurança Alimentar, 2020. p. 1–4.

SOUSA, A. E. D. *et al.* Antifungal action of essential oils against *Fusarium* rot in melon. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 36, n. 3, p. 486–493, 2023.

SOUZA, J. *et al. Citrus sinensis* essential oil-based microemulsions: green synthesis, characterization, and antibacterial and larvicide activities. **ACS Food Science & Technology**, Washington, v. 1, n. 3, p. 462–469, 2021.

YOHANES, R.; GEREMEW, T.; TAFESE, T.; ENDALE ANNİSA, M. Antibacterial and antioxidant activity of compounds from *Citrus sinensis* peels and *in silico* molecular docking study. **International Journal of Secondary Metabolite**, v. 10, n. 3, p. 437–458, 2023.