

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS E QUALIDADE
DE AROMA DO ÓLEO D-LIMONENO

Parecer

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por Tereza Delfina Cortelazzi e aprovada pela Comissão Julgadora em 26.10.95.

TEREZA DELFINA CORTELAZZI
ENGENHEIRA DE ALIMENTOS

Maria Regina Bueno Franco

Dra. MARIA REGINA BUENO FRANCO
ORIENTADORA

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Campinas, SP, 1995

AGRADECIMENTOS

A Dra. Maria Regina Bueno Franco, pela orientação da tese.

A Augusto Cesar Raga, pela orientação na obtenção dos cromatogramas, espectros de massa e identificação dos compostos.

A José Luis LLanos Carrillo, pela análise estatística dos dados e sugestões na redação do trabalho.

A Antonio Luis Salla, pela ajuda na execução das análises cromatográficas.

As equipes de análise sensorial pela disponibilidade.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A Citrosuco Paulista pela permissão do uso de amostras, reagentes, padrões de compostos, cromatógrafos e detector de massa.

A Rogers Cristiano Polo e Esmeralda Borghi, pela presteza na execução dos desenhos.

Aos membros da banca, pelas sugestões na redação final do trabalho.

A Luis Antonio B. Leoni, pelo apoio e amizade durante estes anos.

A Angela Lúdia Cortelazzi Porta, pela colaboração na edição final do trabalho.

As minhas irmãs Paula e Juliane e a todos os meus amigos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

Agradecimento especial a meus avôs Nilo e Lydia Cortelazzi pelo apoio, carinho e confiança.

Dedico,

a meus pais Ivone e Paulo
e a Claudinez Defavari,
pelo amor e incentivo durante estes anos.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FLUXOGRAMA E FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABELAS.....	IX
RESUMO	XII
SUMMARY	XIV
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 - Laranja - Composição e Industrialização	3
2.2 - Subprodutos do Suco Concentrado de Laranja	5
2.2.1 - Óleo essencial	7
2.2.2 - Essências cítricas	10
2.2.3 - Óleo d-limoneno	15
2.3 - Voláteis e Aroma dos Subprodutos do Suco Concentrado de Laranja	19
2.4 - "Off-flavor" em Alimentos	26
2.4.1 - Definição e pesquisa do "off-flavor"	26
2.4.2 - "Off-flavor" em produtos cítricos	27
2.5 - Quimiometria, Aplicada a Análise de Alimentos ...	32

3 - MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 - Seleção da Matéria-Prima	39
3.2 - Amostragem	40
3.3 - Isolamento dos Voláteis	41
3.4 - Cromatografia Gasosa	42
3.5 - Identificação dos Componentes	43
3.5.1 - Determinação do índices de kovats	43
3.5.2 - Espectrometria de massa	44
3.6 - Avaliação Sensorial	45
3.6.1 - Teste de qualidade	45
3.6.2 - "Sniffing" (GC-olfatometria).....	46
3.7 - Análise Estatística	47
3.7.1 - Análise de variância.....	47
3.7.2 - Análise estatística multivariada.....	47
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 - Composição de Voláteis do Óleo D-limoneno.....	49
4.1.1 - Porcentagens relativas de alguns componentes do óleo d-limoneno	49
4.1.2 - Identificação de alguns compostos do óleo d-limoneno	56
4.2 - Avaliação Sensorial	67
4.2.1 - Qualidade de aroma	67

4.2.2 - Resultados do "sniffing"	
(GC-olfatometria)	71
4.3 - Composição de Voláteis e Qualidade de Aroma.....	76
5 - CONCLUSÕES	94
6 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	96

ÍNDICE DE FLUXOGRAMA E FIGURAS

	Página
Fluxograma 1 - Subprodutos do Processamento da Laranja	6
Figura 1 - Estrutura Química do Composto D-limoneno	15
Figura 2 - Cromatograma Típico do Óleo D-limoneno obtido na unidade produtora "A"	50
Figura 3 - Cromatograma Típico do Óleo D-limoneno obtido na unidade produtora "B"	51
Figura 4 - Avaliação Sensorial do Óleo D-limoneno "A" e "B", ano 1991	72
Figura 5 - Avaliação Sensorial do Óleo D-limoneno "A" e "B", ano 1994	72
Figura 6a - Fator 1 X Fator 2	81
Figura 6b - Qualidade de Aroma X Origem	82
Figura 7 - Fator 2 X Fator 3	89
Figura 8 - Fator 1 X Fator 3	92

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Composição Física da Laranja	4
Tabela 2 - Composição Química da Laranja	4
Tabela 3 - Propriedades Físico-Químicas do Óleo D-limoneno	18
Tabela 4 - Composição de Compostos Voláteis de Alguns Subprodutos da Laranja	20
Tabela 5 - Compostos Voláteis Detectados em Produtos Cítricos	21
Tabela 6 - Porcentagem Relativa dos Componentes Voláteis de Alguns Subprodutos da Laranja	23
Tabela 7 - Descrição de Aromas de Alguns Subprodutos da Laranja	25
Tabela 8 - Categorias da Qualidade de Aroma	48
Tabela 9 - Porcentagens Relativas dos Componentes Voláteis do Óleo D-limoneno Proveniente da Unidade Produtora "A"	52

Tabela 10 - Porcentagens Relativas dos Componentes Voláteis do Óleo D-limoneno Proveniente da Unidade Produtora "B"	54
Tabela 11 - Ions Majoritários Provenientes da Fragmentação de Alguns Compostos Voláteis Positivamente Identificados no Óleo D-limoneno	57
Tabela 12 - Ions Majoritários Provenientes da Fragmentação de Alguns Compostos Voláteis Tentativamente Identificados no Óleo D-limoneno	59
Tabela 13 - Fórmulas Estruturais dos Compostos Positivamente Identificados	61
Tabela 14 - Fórmulas Estruturais dos Compostos Tentativamente Identificados	63
Tabela 15 - Porcentagens Relativas dos Compostos Positiva e Tentativamente Identificados no Óleo D-limoneno.	68
Tabela 16 - Notas Sensoriais Obtidas para as Amostras de Óleo D-limoneno "A" e "B" no Teste de Qualidade.	70
Tabela 17 - Avaliação Sensorial dos Picos Individuais do Óleo D-limoneno "A", por "Sniffing" (GC-olfatometria).....	73
Tabela 18 - Resultados do Teste "t"	79

Tabela 19 - Carga Fatorial não menor que $ \pm 0.5\% $, no Primeiro Fator	83
Tabela 20 - Carga Fatorial não menor que $ \pm 0.5\% $, no Segundo Fator	87
Tabela 21 - Carga Fatorial não menor que $ \pm 0.5\% $, no Terceiro Fator	91

RESUMO

Cromatografia gasosa de alta resolução foi empregada na separação dos componentes voláteis do óleo d-limoneno ou "stripper oil", coletado nos anos de 1991 e 1994 em duas unidades produtoras situadas em distintas cidades no interior do Estado de São Paulo. Detectaram-se 84 componentes voláteis. Foram identificados positivamente, por cromatografia gasosa-espectrometria de massa, "Índice de Kovats" e utilização de padrões puros dos compostos, 8 compostos ainda não relatados pela literatura como presentes no óleo d-limoneno. Foi confirmada a presença de 4 compostos relatados por Coleman e Shaw (1974) e identificados tentativamente 20 compostos.

Análise sensorial do aroma dos óleos das duas unidades produtoras, mostrou que os mesmos diferiam entre si com relação à qualidade de aroma, nos dois anos estudados. O produto de uma das unidades apresentou, odor não característico, sendo por isso considerado de baixa qualidade. A técnica de "sniffing" (GC-olfatometria) permitiu conhecer a contribuição individual dos compostos ao aroma do óleo d-limoneno e mostrou que não havia um único composto apresentando odor ruim, que não estivesse presente em ambos os óleos estudados.

Os dados cromatográficos foram analisados aplicando-se a técnica Estatística Multivariada de Análise Fatorial, para

verificar se a diferença entre os aromas dos dois óleos era devido a um desbalanceamento na composição de voláteis do óleo de qualidade inferior de aroma. A análise fatorial identificou seis fatores responsáveis por 73% da variabilidade dos dados, sendo que o Segundo e o Terceiro Fatores, denominados "ano" e "origem" respectivamente, não influenciaram a qualidade do aroma, enquanto o Primeiro Fator revelou-se altamente correlacionado com a qualidade do aroma. Este Fator apontou 24 compostos como responsáveis pela diferença de qualidade entre os dois óleos d-limoneno de origens distintas.

SUMMARY

Eighty-four volatile compounds were detected in d-limonene oil samples, collected in two distinct factories in State of Sao Paulo, during two years (1991 and 1994).

By gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), Kovats Indices and use of pure standards, eight compounds not previously reported in the literature, were identified and the presence of four other compounds already described as constituents of d-limonene oil, was confirmed. Twenty compounds were tentatively identified by GC/MS.

Quality tests applied to samples from the two factories showed that they differed in aroma; one product exhibited a non-characteristic odor and for this reason, it is being rejected by the international market. The technique of sniffing revealed the individual contribution of each compound to the d-limonene aroma and showed that there was no single compound, with unpleasant odor, that could be responsible for the off-aroma.

The multivariate technique (Factor Analysis) was applied to the chromatographic data to verify the hypothesis that the difference in the perceived aroma was due to an unbalanced volatile composition.

The Factor Analysis showed that the Second and Third Factors, denominated "Year" and "Origin", did not affect the aroma quality. The First Factor indicated 24 compounds that could be responsible for the quality differences between the two d-limonene oils.

1 - INTRODUÇÃO

O óleo d-limoneno, também conhecido como "stripper oil", é um dos subprodutos do processamento do fruto cítrico, sendo largamente utilizado para produção de resinas sintéticas, como matéria-prima para as indústrias de "flavor" e fragrâncias e como uma opção de solvente na indústria eletrônica, devido a implicação dos clorofluorcarbonos na destruição da camada de ozônio.

O d-limoneno tem sido pouco recomendado como solvente, devido à maior abundância e menor preço dos derivados de petróleo. Contudo, seu agradável odor e o fato de ser um produto natural, tem assegurado sua utilização em produtos como desinfetantes e aerossóis, mostrando uma tendência crescente de emprego do produto em áreas que exigem odores de boa qualidade.

A atual situação de comercialização do d-limoneno no Brasil compreende:

- 50% da produção destinada ao mercado de resinas, onde o aroma não é importante, havendo porém, uma tendência de redução deste mercado, devido à evolução de substitutos minerais economicamente mais interessantes;

- 50% da produção destinada ao mercado de aromas e fragrâncias, onde é necessário um bom aroma.

O óleo d-limoneno procedente de uma das fábricas no Brasil, vem sendo rejeitado no exterior por seu odor, considerado ruim e não característico, havendo preferência pelo produto de outras unidades de produção. Desde que o aroma final do produto depende da composição quali e quantitativa dos seus voláteis, estudos relacionando a composição do óleo d-limoneno à qualidade de aroma, são necessários para se atingir os requisitos do exigente mercado externo de aromas e fragrâncias.

Os objetivos deste trabalho são:

- 1º) Estabelecer a composição de voláteis do óleo d-limoneno;
- 2º) Verificar as diferenças na composição de voláteis entre o óleo d-limoneno de alta qualidade de aroma e óleo d-limoneno apresentando aroma não característico;
- 3º) Apontar os compostos voláteis que possam ser responsáveis pela diminuição da qualidade de aroma do óleo d-limoneno.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Laranja - Composição e Industrialização

A laranja consiste de gomos envolvidos pela casca e distribuídos radialmente em torno do centro da fruta. Os gomos são constituídos por uma membrana, que envolve as vesículas de suco, as gotículas de óleo e as sementes. A casca é composta por uma camada branca e esponjosa chamada albedo e por uma camada externa contendo matéria colorida e bolsas de óleo, denominada flavedo, (Steger et al. 1982).

A composição da fruta varia de acordo com a variedade, clima, altitude, adubações, tratos culturais e estágio de maturação. As tabelas 1 e 2 mostram, respectivamente, a composição física e química aproximada da laranja. Estão ainda presentes na fruta, enzimas, pigmentos, compostos voláteis, flavonóides e vitaminas.

O suco de laranja concentrado é o principal produto da indústria cítrica brasileira.

No Brasil são utilizadas extratoras do tipo "FMC IN LINE", constituídas de dois copos em forma de dedos, que se

Tabela 1 - COMPOSIÇÃO FÍSICA DA LARANJA

CONSTITUINTES	%
Suco	40.0 a 45.0
Flavedo	8.0 a 10.0
Albedo	15.0 a 30.0
Polpa e membrana	20.0 a 30.0
Semente	0.0 a 4.0

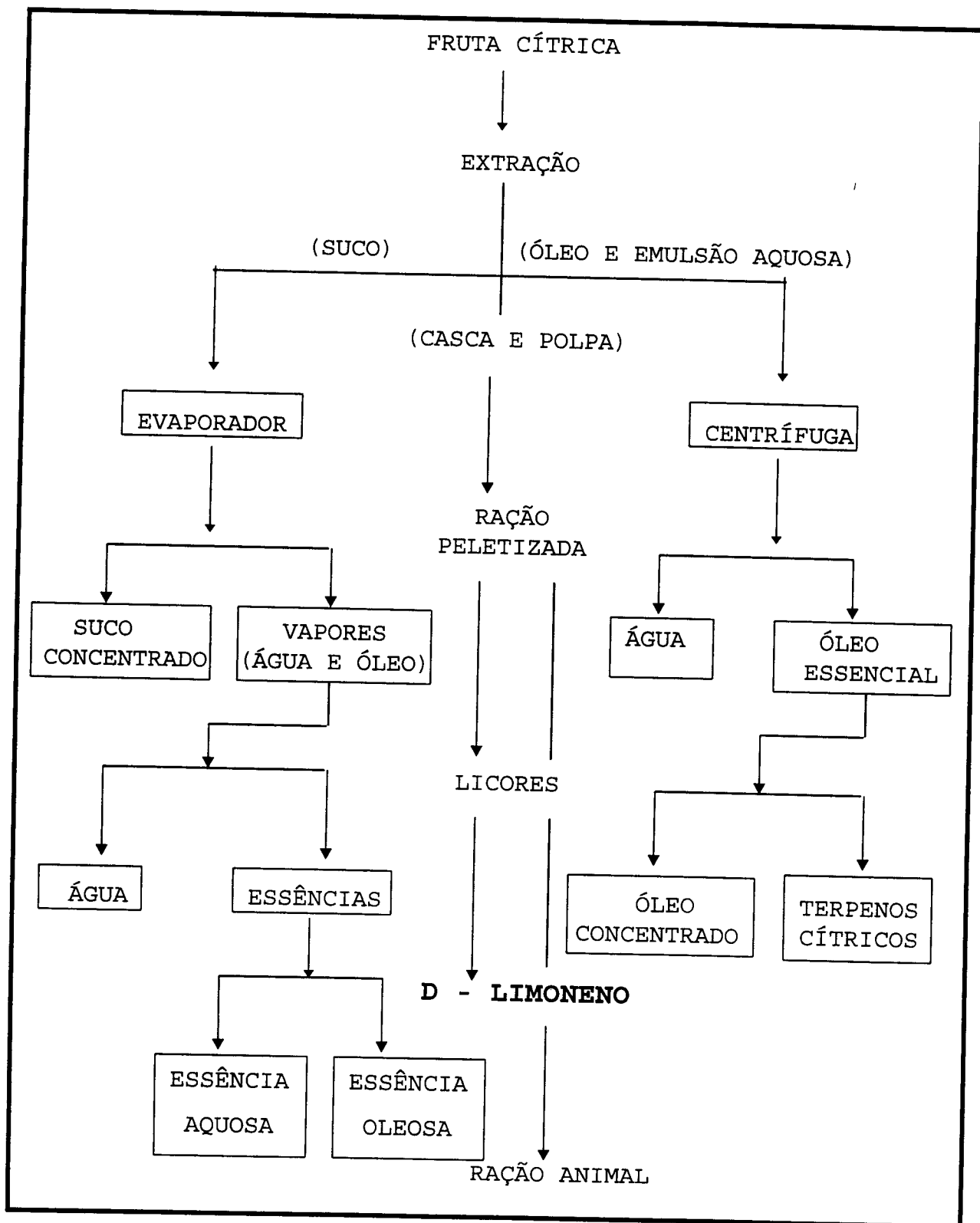
Tabela 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA LARANJA

CONSTITUINTES	%
Água	86.0 a 92.0
Açúcares	5.0 a 8.0
Pectina	1.0 a 2.0
Componentes nitrogenados	0.7 a 0.8
Lipídeos	0.2 a 0.5
Óleo essencial	0.2 a 0.5
Minerais	0.5 a 0.9

interpenetram, comprimindo a laranja inteira. O copo inferior é dotado de um tubo através do qual escoar o suco. Esse tubo de tela perfurada, retém parte da polpa e demais partes sólidas, impedindo que venham a se incorporar ao suco. Um dispositivo comprime a parte da laranja contida dentro do tubo para completar a extração. A casca é expelida por cima dos dedos do copo, enquanto jatos de água separam o óleo contido nesta. Por este processo de extração, se obtém, separada e simultaneamente, o suco, o óleo da casca e a casca mais o bagaço, (Steger et al. 1982).

2.2 - Subprodutos do Suco Concentrado de Laranja

São vários os subprodutos obtidos do processamento de suco concentrado de laranja. O fluxograma 1 mostra as etapas para obtenção destes subprodutos, dentre os quais serão considerados o óleo essencial (ou óleo prensado a frio), a essência oleosa (ou óleo essência), a essência aquosa (ou aroma) e o óleo d-limoneno (ou "stripper oil"), por que todos os componentes voláteis da laranja se encontram nessas diferentes frações. Devido à presença de compostos voláteis responsáveis pelo sabor e odor característico dos produtos cítricos, os óleos cítricos são muito valorizados pelas indústrias de sabores, que consomem quantidades consideráveis de óleos naturais e concentrados, os quais apresentam várias aplicações em muitas indústrias, como as



Fluxograma 1 - SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA LARANJA

de bebidas, alimentos, perfumes, cosméticos, farmacêutica, tintas, condimentos, borrachas e têxtil, podendo ser ainda utilizados como aromatizantes para outros tipos de produtos, (Matthews e Braddock, 1987).

2.2.1 - Óleo essencial

O óleo essencial cítrico, também conhecido como óleo prensado a frio, está presente nas vesículas de óleo do flavedo. No Brasil, devido à utilização de extratoras do tipo "FMC IN LINE", a recuperação deste óleo é feita simultaneamente à extração do suco. Durante a compressão da fruta na extratora, as células de óleo são rompidas e o óleo é arrastado por um jato de água, resultando em uma mistura de água, óleo e sólidos finos (provenientes da casca). Após passagem por peneira ("finisher") para a remoção de detritos, a emulsão aquosa resultante contém de 1 a 3% de óleo, o qual é separado por duas etapas de centrifugação. Em seguida o óleo é conduzido a um tanque de aço inoxidável, e mantido entre -25°C e -5°C por aproximadamente 20 dias, para a separação e subsequente remoção das ceras. O óleo deve então ser armazenado a temperaturas entre 15 e 22°C para evitar precipitação e manter a qualidade de "flavor". O rendimento deste processo é de aproximadamente 6.75 kg de óleo essencial por tonelada de laranja, (Ranganna et al. 1981; Steger et al. 1982).

Segundo Ranganna et al. (1981), a estabilidade do óleo cítrico durante a estocagem é largamente determinada pela produção, tipo de processo e equipamento usados, enquanto a qualidade do óleo é influenciada pela sanitização e contaminação bacteriológica, sendo a estocagem e o manuseio muito importantes para manter a qualidade de "flavor" e aroma. Os óleos essenciais estocados a temperatura ambiente podem sofrer mudanças como a redução do d-limoneno e dos aldeídos C₈ e C₁₀, assim como o aparecimento de produtos de oxidação (carvona, carveol e correspondentes ácidos). A oxidação de terpenos na presença de ar leva ao desenvolvimento de "flavors" desagradáveis.

Os óleos essenciais, importantes agentes flavorizantes para perfumes, bebidas, produtos cítricos e outros produtos alimentícios, são geralmente concentrados por destilação a vácuo para remoção da porção terpênica, sendo então chamados de óleos desterpenados ou concentrados("folded"). Estes concentrados apresentam maior estabilidade e solubilidade em relação ao óleo essencial, e um eficiente poder flavorizante devido ao elevado teor dos componentes oxigenados naturais (responsáveis pelo "flavor" cítrico característico), (Vora et al. 1983).

A composição aproximada do óleo essencial de laranja é de 96% de hidrocarbonetos terpênicos (principalmente d-limoneno), 1.6% de aldeídos (principalmente octanal e decanal), 0.8% de álcoois (principalmente linalool), 0.3% de ésteres (principalmente acetatos de octila e nerila) e 1% de não voláteis. Os compostos de alto ponto de ebulição contribuem com uma "nota pesada" ao aroma do óleo, (Matthews e Braddock, 1987).

A análise do óleo essencial de laranja valência, por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, mostrou que o composto d-limoneno é o maior constituinte, enquanto linalool e decanal são os maiores compostos oxigenados e importantes contribuintes ao "flavor". Octanal, neral, geranial, citronelal, β -sinensal, α -sinensal e nootkatone já tinham sido considerados anteriormente importantes compostos oxigenados, contribuintes ao sabor característico de laranja, (Vora et al. 1983).

Shaw (1979) revisou criticamente os dados quantitativos dos componentes individuais de óleos essenciais cítricos. O autor enfatizou a importância da exatidão dos valores quantitativos, dada a necessidade de uma proporção específica dos vários compostos para se criar o "flavor" único de cada espécie cítrica. Discutiu as possíveis fontes de variações entre as análises cromatográficas, como o método preliminar de separação, o método para cálculo da porcentagem relativa, o tipo de coluna ou detector usado, a decomposição de certos componentes devido as condições utilizadas para a cromatografia gasosa (GLC) e o histórico das amostras, incluindo o método de preparação. O autor observou ainda que o óleo essencial cítrico contém material não volátil, sendo necessária uma etapa preliminar para remoção destes materiais.

Lawrence (1992) fez uma revisão dos trabalhos mais recentes sobre óleos essenciais e incluiu uma comparação da composição química de óleo essencial obtido de três cultivares brasileiros,

Pêra, Hamilin e Peralima. A composição dos óleos mostrou uma leve diferença entre cultivares.

O trabalho de Dugo et al. (1992) abordou os tipos de adulteração em óleos essenciais cítricos e os métodos para verificar fraudes, mostrando a utilidade da cromatografia gasosa e que a relação entre alguns componentes é comprovadamente mais útil do que a determinação dos valores mínimo e máximo de componentes individuais.

2.2.2 - Essências cítricas

As essências cítricas naturais são constituídas pelos componentes do "flavor" obtidos durante a concentração do suco cítrico e coletados por uma unidade recuperadora de essências, que pode estar localizada no primeiro e/ou segundo estágio do evaporador. Estes componentes do "flavor" são separados, antes da estocagem, em uma fase aquosa (chamada essência aquosa) e uma fase oleosa (conhecida como óleo essência ou essência oleosa), (Johnson e Vora, 1983; Moshonas e Shaw, 1984).

As essências cítricas devem ser armazenadas protegidas da luz a -18°C, para evitar a degradação do d-limoneno, o que resultaria na deterioração da essência, (Ranganna et al. 1981).

As essências, aquosa e oleosa, são dois importantes subprodutos usados como flavorizantes para atribuir "flavor"

característico e aroma "de fresco" ao suco concentrado de laranja, (Moshonas e Shaw, 1990).

A essência aquosa é predominantemente uma solução água/etanol, contendo a maioria dos componentes mais voláteis do "flavor", os quais refletem qualitativa e quantitativamente o ← sabor e o aroma do suco original, (Moshonas e Shaw, 1984 e 1986). Os hidrocarbonetos, que compreendem 95% dos óleos cítricos, são os menores componentes, enquanto o etanol é o maior constituinte orgânico. A referida essência ainda contém ácidos, aldeídos, ésteres, cetonas e compostos mistos dentre os quais um composto sulfurado, o sulfeto de hidrogênio, (Ranganna et al., 1981). Shaw (1977b), apresentou uma listagem dos compostos identificados na essência aquosa, sugerindo que os componentes 1-penten-3-ona (etil vinil cetona) e trans-2-pentenal, em quantidade de traços, são compostos importantes para o "flavor" desta fração.

Nota-se pela revisão da literatura que os trabalhos mais recentes dão a devida importância para a análise quantitativa na verificação da qualidade de essências cítricas. A relação quantitativa dos constituintes pode ter um efeito dramático no "flavor" e qualquer alteração desta relação indicaria uma essência de qualidade questionável, (Moshonas e Shaw, 1984). Segundo os autores, um padrão de qualidade ainda não foi estabelecido para as essências cítricas, o que pode ser justificado pelos inúmeros fatores que interferem na qualidade destes produtos, como a variação dos métodos de processamento, as diferenças entre cultivares, diferenças de maturidade e período de colheita.

Moshonas e Shaw (1984), apresentaram também um método analítico onde a essência aquosa é diretamente introduzida no cromatógrafo, para obtenção de dados quali e quantitativos dos constituintes do "flavor" e do aroma. O desenvolvimento do método foi possível com o uso de colunas capilares de sílica fundida com fase líquida ligada apolar, as quais resistem à degradação associada às análises de amostras aquosas. O método foi utilizado pelos mesmos autores em 1986, para uma comparação quantitativa dos componentes voláteis de diversos produtos cítricos. Concluíram que a relação quantitativa dos componentes individuais do "flavor" é crítica para obtenção do completo "flavor de suco fresco", que não foi ainda reproduzido em nenhum produto. Na prática, nem a adição da essência aquosa de laranja é capaz de reproduzir completamente o sabor do suco fresco, porque alguns componentes voláteis são parcialmente perdidos ou quimicamente alterados durante o processo de destilação.

A essência oleosa contém a maioria dos componentes encontrados na essência aquosa e no óleo essencial e apresenta "flavor" similar ao obtido pela combinação dos mesmos. Esta essência é utilizada como flavorizante de produtos de laranja, e recentemente tem sido fracionada para fornecer frações específicas de "flavor" (como ésteres e aldeídos) que podem ser adicionadas à essência aquosa para reforçar as propriedades de "flavor", (Shaw, et al. 1990).

Johnson e Vora (1983) analisaram, quali e quantitativamente, a essência oleosa de laranja com injeção direta das amostras. Os compostos mais importantes,

contribuintes do "flavor", foram acetato de etila, acetal, butirato de etila, hexanal, trans-2-hexenal, octanal, decanal, neral e geranial. D-limoneno (93.6%) foi o constituinte majoritário e valenceno (1.7%), o sesquiterpeno de maior concentração. Como a essência oleosa de laranja é um óleo destilado e é mais susceptível à oxidação do que o óleo de laranja prensado a frio, é requerido um cuidado extra com a estocagem. Os autores apresentaram um balanço de materiais, mostrando que se obtém aproximadamente 1.1 kg de essência aquosa (contendo 13% de álcool) e 0.077 Kg de essência oleosa por tonelada de laranja processada.

Braddock e Kesterson (1976), utilizando a combinação das técnicas TLC e DNPH (dinitrofenilhidrazina) e trabalhando com a variedade "Valência", observaram que a essência oleosa geralmente apresenta uma menor relação aldeído/éster que o óleo prensado a frio, como consequência da alta porcentagem de ésteres, parcialmente responsável pela maior característica de "aroma suco" desta essência. Ranganna et al. (1981) relataram que a alta concentração de valenceno na essência oleosa proporciona uma notável diferença desta com relação ao óleo essencial. Butirato de etila tem sido comumente observado na essência oleosa, mas não no óleo essencial, enquanto que os aldeídos, encontrados no óleo essencial e na essência aquosa, estão ausentes na essência oleosa.

Segundo Moshonas e Shaw (1990), a essência oleosa contém alguns componentes voláteis encontrados no suco, mas é principalmente constituída pelos componentes voláteis encontrados no óleo da casca. Difere do óleo prensado a frio

quanto ao aroma e ao "flavor", pois carece dos compostos de alto ponto de ebulição. Já os compostos mais voláteis dão à essência oleosa um agradável "bouquet" reminescente de laranja fresca.

Moshonas e Shaw (1990), compararam a composição e a qualidade do "flavor" de essências produzidas no Brasil e nos Estados Unidos, concluindo que as essências aquosas e oleosas dos dois países são qualitativamente idênticas. A comparação quantitativa mostrou diferença significativa em 9 dos 27 componentes quantificados na essência aquosa. O leve aumento de α -terpineol na amostra brasileira poderia indicar um tratamento térmico adicional durante o processamento, segundo os autores. A comparação quantitativa entre as essências oleosas mostrou que vários componentes importantes para o "flavor" de laranja como butirato de etila, octanal, decanal e neral, foram significativamente maiores nas amostras dos Estados Unidos. No entanto, o nível ótimo para estes compostos ainda não foi estabelecido. Vários produtos de oxidação do principal constituinte, d-limoneno, foram maiores em duas das três amostras americanas, incluindo cis-2, 8-p-mentadieno-1-ol, trans-carveol e carvona.

Foram encontradas diferenças significativas entre o aroma das amostras brasileiras e americanas. Desde que os constituintes voláteis eram idênticos, as diferenças de aroma entre as essências foram determinadas pelas quantidades variáveis de cada componente. No entanto, não houve preferência significativa por qualquer uma das essências, quando usadas para restaurar o sabor de suco de laranja. Os autores concluíram que as essências brasileiras poderiam ser misturadas às americanas

para produzir frações mais uniformes, sem afetar adversamente a qualidade de sabor e de aroma.

2.2.3 - Óleo d-limoneno

O maior componente do óleo de frutas cítricas é o d-limoneno. Quimicamente é um "hidrocarboneto terpênico" ($C_{10}H_{16}$), também denominado 4-isopropenil-1-metilciclohexano, 1,8 p-mentadieno, cineno ou ainda, limoneno. A figura 1 mostra a estrutura química deste composto.

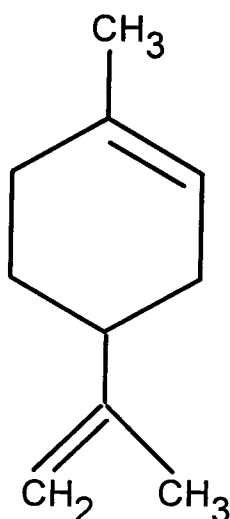


Figura 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DO D-LIMONENO

Óleo d-limoneno ou "stripper-oil" é também o nome dado a um dos subprodutos da indústria cítrica, obtido no processamento do bagaço e apresentando odor levemente cítrico. No processamento, o suco extraído corresponde a aproximadamente 50% da fruta, os outros 50% (sementes, bagaço e casca),

considerados resíduos, e os descartes das centrifugas de óleo (água amarela), podem ser utilizados para obtenção de subprodutos como polpa cítrica peletizada, óleo d-limoneno e álcool de laranja. Durante o processo de obtenção da polpa cítrica peletizada, os resíduos, após receberem a adição de cal para promover uma rápida degradação e demetilação da pectina da casca, passam por duas etapas de prensagem para redução da umidade, gerando licores. Na obtenção do óleo d-limoneno, os licores contendo açúcares, óleo, água e outros constituintes solúveis, são concentrados em evaporadores que funcionam com o aproveitamento do calor residual do processo de secagem do bagaço cítrico durante a produção da polpa seca peletizada, originando o melaço cítrico (que pode ser usado para produção do álcool cítrico) e liberando vapores. A condensação origina o óleo d-limoneno emulsionado com água, que é enviado para tanques de decantação onde é então separado. O óleo d-limoneno pode ser utilizado como aromatizante de saponáceos, cosméticos, flavorizante de produtos farmacêuticos e alimentícios e também como matéria-prima para a produção de resinas para indústrias de adesivos, (Ranganna et al. 1981 e Nagy et al. 1977).

O processamento de uma tonelada de laranja permite uma recuperação aproximada de 2 kg de óleo d-limoneno, assim denominado porque contém aproximadamente 95% desse composto. Susceptível à oxidação, deve ser estocado em condições atmosféricas controlada de dióxido de carbono ou nitrogênio, podendo ainda ser utilizado de 50 a 100 µg/L de BHT para a sua conservação, (Ranganna et al. 1981).

A revisão da literatura mostrou apenas um trabalho referente à composição de voláteis do óleo d-limoneno. Coleman e Shaw (1974) analisaram cinco óleos destilados de laranja, entre eles o d-limoneno. Na época, o óleo estava sendo vendido apenas pelo seu alto conteúdo de d-limoneno e os autores sugeriram outros usos para os óleos destilados e recuperados durante o processamento do suco de laranja concentrado. Os autores perceberam que tais subprodutos, cada vez mais disponíveis, poderiam ser de grande valor às indústrias, criando assim novos mercados.

Neste trabalho, a análise cromatográfica foi feita em coluna empacotada e foram identificados apenas os componentes voláteis com porcentagem relativa maior do que 0.1%, d-limoneno, mirceno, linalool, α -pineno, octanal e nonanal.

A tabela 3 mostra as propriedades físico-químicas do d-limoneno comercial.

Tabela 3 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO D-LIMONENO

Conteúdo de d-limoneno	95.00 a 97.00	%
Conteúdo de aldeídos	0.50 a 1.00	%
Conteúdo de éster	0.07 a 0.20	%
Índice de refração a 20°C	1.4713 a 1.4741	
Ponto de ebulição	175 a 178	°C
Ponto de congelamento inicial	-57	°C
Ponto de decomposição	140	°F
Ponto de inflamação	140	°F
Viscosidade (S.S.U)		
a 100 °C	29.00	
a 28 °C	30.00	
a 0 °C	32.00	
a -18 °C	35.00	
a -36 °C	41.00	
Tensão superficial (dina/cm2)		
a 100 °C	22.30	
a 26 °C	30.00	
a 0 °C	29.40	
a -18 °C	29.50	
Peso específico		
a 100 °C	0.804	
a 28 °C	0.841	
a 0 °C	0.858	
a -18 °C	0.867	
a -36 °C	0.878	
Rotação óptica (D25)	+97 a +99	
Cinzas	0.00	%
Acidez (mg KOH/g)		
Total	1.13	
Volátil	0.30	
Número de saponificação	7	
Número de Iodo	353	

Fonte: Braddock et al. 1986.

2.3 - Voláteis e Aroma dos Subprodutos do Suco Concentrado de Laranja

A revisão da literatura mostrou que a composição de voláteis dos vários óleos cítricos é grosseiramente similar e consiste do monoterpeneo d-limoneno (90 a 95%), hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas.

A tabela 4 salienta similaridades e diferenças entre a composição de voláteis do óleo essencial, óleo d-limoneno, essência aquosa e essência oleosa extraídos da laranja. A tabela 5 mostra os componentes já detectados nestes subprodutos.

As porcentagens relativas dos componentes voláteis das essências aquosa, oleosa e óleo essencial, como determinadas por Moshonas e Shaw (1990) e Lawrence (1992), foram colocadas na tabela 6 para ilustrar diferenças quantitativas entre as frações.

Os aromas do óleo essencial, essência aquosa, essência oleosa e óleo d-limoneno, são descritos na tabela 7.

**Tabela 4 - COMPOSIÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ALGUNS
SUBPRODUTOS DA LARANJA.**

Produto	Cultivar	Referências	Componentes Voláteis (*)
ÓLEO ESSENCIAL	Valência	Shaw, 1977a e 1979/ Shaw e Coleman, 1974/ Matthews e Braddock, 1987/ Hunter e Brogden, 1965a e 1965b/ Lawrence, 1992/ Vora <i>et al.</i> , 1983/ Berry, 1985	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 55, 56, 58, 59, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 82, 83, 84, 85, 86, 88, 89, 90, 91, 92, 95, 96, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 118, 126, 127, 130, 138, 140, 141, 142, 145, 148, 149, 155, 167, 170, 179, 180, 187, 189, 192, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 .
ÓLEO D-LIMONENO	-	Coleman e Shaw, 1974	1, 13, 14, 29, 30, 31.
ESSÊNCIA AQUOSA	Pêra e Valência	Johnson e Vora, 1983/ Moshonas e Shaw, 1984, 1986 e 1990/ Wolford <i>et al.</i> , 1962/ Schultz <i>et al.</i> , 1967/ Shaw, 1977b	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 26, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 88, 89, 90, 94, 97, 98, 99, 102, 104, 106, 109, 110, 114, 116, 117, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 198 .
ESSÊNCIA OLEOSA	Pêra e Valência	Johson e Vora ,1983/ Moshonas e Shaw, 1979 e 1990/ Coleman e Shaw, 1971/ Lund e Bryan, 1977/ Coleman <i>et al.</i> , 1969/ Hunter e Brogden, 1965a.	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 78, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96,, 102, 103, 105, 112, 113, 114, 115.

(*) Componentes Voláteis: ver Tabela 5.

Tabela 5 - COMPOSTOS VOLÁTEIS DETECTADOS EM PRODUTOS CÍTRICOS

(1)linalool, (2)2-pentanol, (3)4-terpineol, (4) α -terpineol, (5)citral, (6)citronelal, (7)decanal, (8)dodecanal, (9)Geranial, (10)heptanal, (11)hexanal, (12)neral, (13)nonanal, (14)octanal, (15)perilaldeido, (16) α -sinensal, (17) β -sinensal, (18)tetradecanal, (19)trans,trans-2,4-decadienal, (20)undecanal, (21)neril acetato, (22)neril formato, (23) α -bergamoteno, (24) δ -cadineno, (25) β -cubebeno, (26)p-cimeno, (27) β -elemeno, (28)farneseno^b, (29)limoneno, (30)mirceno, (31) α -pineno, (32)sabineno, (33) γ -terpineno, (34)terpinoleno, (35)valenceno, (36) nootkatone, (37)metanol, (38)acetaldeido, (39)etanol, (40)cis-3-hexen-1-ol, (41)1-hexanol, (42)octanol, (43) trans-2-hexenal, (44)nerol, (45)geraniol, (46)cis-carveol, (47)trans-carveol, (48)cis-óxido de linalool, (49) trans-óxido de linalool, (50)1-penten-3-ol, (51)n-amil álcool, (52)cis-2-hexen-1-ol, (53)formato de terpenila, (54)etil-3-hidroxihexanoato, (55)cis-2,8-p-mentadien-1-ol, (56)trans-2,8-p-menta-dien-1-ol, (57)1,8-p-mentadie-ne-9-ol, (58) 8(10)-p-mentene-1,2-diol, (59)citronellol, (60)1-propanol, (61)acetato de etila, (62)acetal, (63) butirato de etila, (64)água, (65)propionato de etila, (66)butirato de metila, (67)3-metil-1-butanol, (68)2-metil,etil butirato, (69)1,1-dietoxipropano, (70)felandreno^b, (71)acetato de octila, (72) β -cariofileno, (73) β -copaeno, (74)acetona, (75)2-metil-3-buten-2-ol, (76)pentanol, (77)1-butanol, (78)etil-vinil-cetona, (79)sulfeto de hidrogênio, (80)álcool isoamílico, (81)trans-2-hexanol, (82)ocimeno, (83)carvona, (84)decanol, (85)dodecanol, (86)elemol, (87)intermedeol, (88)nonanol, (89)undecanol, (90)piperitenona, (91)1,8-p-mentadien-9-ilacetato, (92)episelineno, (93)heptano, (94)hexano, (95) α -humuleno, (96) β -humuleno, (97)trans-2-pentenal, (98)1,1-die-toxi octano, (99)timol, (100)nonano, (101)octano, (102)metil-ciclopentano, (103)hexenal, (104)isopreno, (105) α -copaeno, (106) α -tujeno, (107)canfeno, (108)2,4-p-mentadieno, (109)3-careno, (110) α -terpineno, (111) β -terpineno, (112) α -ilangeno, (113) β -ilangeno, (114)cariofileno^b, (115)metil-ciclohexano, (116) β -felandreno, (117)fenil-2-etanol, (118) β -farneseno, (119) α -etil butiraldeido, (120)2-metil-2-pentanol, (121)n-butil-álcool, (122)2-etil hexanal, (123)etil-n-caprilato, (124)2-nonanol, (125)2-octenol, (126)acetatode citronelila, (127)acetatode terpenila, (128)metil-N-metil-antranilato, (129)d-nerolidol, (130)2-metil-3-buten-2-ol, (131)isobutanol, (132) hexanoato de etila, (133)hexanoatode metila, (134)benzaldeido, (135)etil octanoato, (136)isohexanol, (137)2-butanol,

(138)ácido acético, (139)ácido butírico, (140)ácido decanóico, (141)ácido fórmico, (142)ácido hexanóico, (143)ácido-3-metil-butanoico, (144)ácido-4-metil-pentanóico, (145)ácido octanóico, (146)ácido pentanóico, (147)ácido propionico, (148)heptanol, (149)3-hepten-1-ol, (150)2-hexanol, (151)trans-2-hexen-1-ol, (152)2-metil-1-butanol, (153)butiraldeído, (154)3-etoxihexanal, (155)furfural, (156)malonaldeído, (157)2-octenal, (158)trans-2-pentenal, (159)propionaldeído, (160)butirato de butila, (161)butirato de citronelila, (162)decanoato de etila, (163)formato de etila, (164)isobutirato de etila, (165)octanoato de etila, (166)etil-2-metilbutirato, (167)acetato de linalila, (168)metil-3-hidroxihexanoato, (169)cis-óxido delimoneno, (170)trans-óxido de limoneno, (171) 2-pentanona, (172)2-octanona, (173)4-metil-2-pentanona, (174)metil heptanona, (175)butanona, (176)xileno^b, (177)o-xileno, (178)tolueno, (179) β -pineno, (180) α -felandreno, (181)3-metil-pentano, (182)2-metil-pentano, (183)metano, (184)p-isopropenil tolueno, (185)etilbenzeno, (186)ciclohexano, (187)benzeno, (188)bifenil, (189)butirato de octila, (190)octil-3-metil-butirato, (191)octanoatodemetila, (192)metil N-metilantranilato, (193) γ -decanolactona, (194)dietil carbonato, (195)1,1-etoximetoxietano, (196)etil sec-butil eter, (197)cloridrato de metila, (198)3-hexen-1-ol, (199)dióxido de limoneno, (200)acetato de geranila, (201) γ -cadineno, (202)borneol, (203)farnesol, (204)1,8-p-mentadiene-1-ol, (205)1-p-menteno-9-ol, (206)2-decenal, (207)2-dodecenal, (208) α -heptil- β -heptil acroleína, (209) α -heptil- β -nonil acroleína, (210) α -hexil- β -heptil acroleína, (211) α -hexil- β -nonil acroleína, (212) α -hexil- β -octil acroleína, (213)acetato de perila, (214)metil-2-etil hexanoato, (215)acetato de geranila, (216)butirato de geranila, (217)formato de geranila, (218)acetato de decila, (219)etil iso-pentanoato, (220)acetato de bornila, (221) α -octil- β -heptilacroleína, (222) α -octil- β -octil acroleína, (223) α -cubebeno, (224)3-metil-1-buteno, (225)p-metil-isopropenil benzeno, (226)2-decanona, (227)metil-heptenona, (228)nootkateno.

^a Provavelmente contaminante do solvente usado.

^b A posição da dupla ligação não foi determinada..

**Tabela 6 - PORCENTAGEM RELATIVA DOS COMPONENTES VOLÁTEIS
DE ALGUNS SUBPRODUTOS DA LARANJA.**

COMPOSTO	ESSÊNCIA AQUOSA (*)	ESSÊNCIA OLEOSA (*)	OLEO ESSENCIAL (**)	OLEO D-LIMONENO (***)
Acetaldeído	0.586	-----	-----	-----
Metanol	3.366	0.001	-----	-----
Etanol	94.239	0.020	-----	-----
Acetona	0.014	tr	-----	-----
1-Propanol	0.047	-----	-----	-----
Acetato de etila	-----	0.002	-----	-----
Acetato de etila + 2-metil-3-buten-2-ol	0.083	-----	-----	-----
2-Metil propanol	0.008	-----	-----	-----
1-Butanol	0.009	-----	-----	-----
1-Penten-3-ol	0.015	-----	-----	-----
Etil vinil cetona	0.021	-----	-----	-----
Metil butirato	0.002	-----	-----	-----
1,1-Dietoxietano	0.007	0.004	-----	-----
Álcool isoamílico	0.022	-----	-----	-----
Butirato de etila	0.055	0.057	-----	-----
Hexanal	0.031	-----	-----	-----
Trans-2-hexenal	0.032	-----	-----	-----
Trans-2-hexenol + cis-3-hexen-1-ol	0.005	-----	-----	-----
Octanal	0.007	0.216	-----	0.700
Limoneno	0.001	95.037	93.430	94.000
Octanol	0.015	0.071	0.110	-----
Óxido de linalool	0.001	-----	-----	-----
Linalool	0.143	0.500	0.060	1.700
Etil-3-hidroxihexanoato	0.004	0.020	-----	-----
Terpinen-4-ol	0.005	-----	-----	-----
α -Terpineol	0.033	0.051	0.090	-----
Neral	0.001	0.061	0.070	-----
Geranial	0.001	0.048	0.160	-----
Perilaldeído	tr	0.029	-----	-----
Hexenal	-----	0.007	-----	-----
α -Pineno	-----	0.493	0.950	0.500
Sabineno	-----	0.358	0.710	-----
Mirceno	-----	1.833	3.310	2.300
α -Felandreno	-----	0.036	tr	-----
Ocimenol	-----	0.145	-----	-----
Nonanal	-----	0.035	0.060	0.100
Cis-2,8-p-mentadien- 1-ol	-----	0.038	-----	-----
Citronelal	-----	0.066	-----	-----

Decanal	-----	0.175	-----	-----
Trans-carveol	-----	0.019	-----	-----
Carvona	-----	0.066	-----	-----
Valenceno	-----	0.244	0.270	-----
β -Pineno	-----	-----	tr	-----
α -Terpineno	-----	-----	tr	-----
β -Felandreno	-----	-----	tr	-----
γ -Terpineno	-----	-----	0.020	-----
p-Cimeno	-----	-----	0.040	-----
Terpinoleno + octanal	-----	-----	0.230	-----
Citronelal + acetato de octila	-----	-----	0.040	-----
Decanol	-----	-----	0.330	-----
Acetato de linalila	-----	-----	0.060	-----
Undecanal	-----	-----	0.040	-----
β -Cariofileno	-----	-----	0.040	-----
Nonanol	-----	-----	0.070	-----
Acetato de citronelila	-----	-----	tr	-----
Dodecanal	-----	-----	0.040	-----
Acetato de nerila	-----	-----	0.060	-----
Citronelol	-----	-----	0.030	-----
Acetato de geranila	-----	-----	tr	-----
Nerol	-----	-----	0.050	-----

tr= traços

Fontes:

- (*) Moshonas e Shaw, 1990 - Dados referentes a essências brasileiras
- (**) Lawrence, 1992 - Dados referentes a óleo essencial brasileiro
- (***) Coleman e Shaw, 1974 - Dados referentes a óleo d-limoneno E.U.A.

Tabela 7 - DESCRIÇÃO DE AROMAS DE ALGUNS SUBPRODUTOS DA LARANJA

Sub-Produto	Descrição Do Aroma
ÓLEO ESSENCIAL	Agradável odor de laranja, notas "pesadas" de aroma.
ESSÊNCIA AQUOSA	Odor característico de suco de laranja recém extraído.
ESSÊNCIA OLEOSA	"Bouquet" de laranja fresca, odor similar a combinação do óleo essencial e essência aquosa, porém faltando as notas "pesadas" de aroma.
ÓLEO D-LIMONENO	Odor levemente cítrico.

Fonte: Ranganna et al. 1981;

Matthews e Braddock, 1987;

Moshonas e Shaw, 1986 e 1984;

Shaw et al. 1990.

2.4 - "Off-flavor" em Alimentos

2.4.1 - Definição e pesquisa do "off-flavor"

A contaminação de alimentos com compostos orgânicos voláteis pode levar ao aparecimento repentino de odores e/ou sabores desagradáveis, ou seja, "off-flavor". Tais compostos podem estar presentes em concentrações menores que 1 µg/kg e ainda causar "off-flavor" se forem poderosos odoríferos, (Whitfield e Shaw, 1984). "Off-flavor" também pode se referir a um sabor inesperado ou estranho, não necessariamente desagradável, (Clark et al. 1992).

A contaminação de alimentos frescos ou processados pode ser causada por adsorção de compostos orgânicos voláteis, da água usada no processamento, dos materiais de embalagem e do próprio ambiente no qual o alimento se desenvolveu, foi processado ou armazenado. Processos oxidativos ou microbianos também podem levar à formação de "off-flavor", (Whitfield e Shaw, 1984).

O sucesso da investigação de problemas de "off-flavor", de acordo com Whitfield e Shaw (1984), depende da seleção de um painel sensível ao odor e/ou sabor estranho, com representantes da indústria envolvida, para confirmação do reconhecimento do "off-flavor". A separação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa de alta resolução, juntamente com o "sniffing" (GC-olfatometria) do efluente da coluna para a

percepção do odor, permitiria restringir o problema à uma pequena área do cromatograma. A transferência desta fração ao espectrômetro de massas possibilitaria então a identificação do composto responsável pelo "off-flavor". Segundo os autores, as técnicas instrumentais deveriam ser operadas nos seus limites de resolução e sensibilidade.

2.4.2 - "Off-flavor" em produtos cítricos

A qualidade do sabor de sucos cítricos diminui após o processamento e subsequente estocagem. De todos os sucos cítricos comerciais, o suco de laranja foi considerado o mais delicado e de difícil preservação do sabor, (Rouself et al. 1992).

O suco de laranja perde parte dos compostos responsáveis pelo seu odor e sabor durante a concentração. Óleos cítricos são normalmente adicionados ao suco concentrado para restaurar grande parte do aroma original de laranja e mascarar "off-flavors" produzidos durante a evaporação. O maior componente destes óleos é o d-limoneno, hidrocarboneto terpênico que não contribui diretamente para o aroma, mas pode ser fonte de "off-flavor" desenvolvidos durante a estocagem, (Rouself et al. 1992).

A deterioração do sabor de suco de laranja, armazenado a temperatura superior a 21°C, leva a um odor descrito como "de

terebentina", acre e canforáceo. Blair et al. (1952) evidenciaram que o "off-flavor" de terebentina surgia devido à incompatibilidade dos compostos terpênicos, presentes no óleo da casca, com o suco ácido, mantidos separados pela natureza. As reações envolvidas são conhecidas como reações de hidratação-desidratação catalisadas por ácidos (ACHD).

A velocidade destas reações é função do pH, mas são fundamentalmente independentes da presença do oxigênio, introduzido por meio da adição de água, e não por oxidação. A reação predominante inicial é a hidratação do d-limoneno a α -terpineol. Reações subsequentes levam a formação de 1,8 e 1,4 cineóis, descritos como possuindo odor pungente e canforáceo, sendo que o isômero 1,4 apresenta aroma mais acre.

O aroma de α -terpineol foi descrito como "lilazes", não pungente, (Blair et al. 1952). No entanto, Rouself et al. (1992), atribuíram a α -terpineol o "off-flavor" desenvolvido por reações catalisadas por ácido, a partir de d-limoneno e linalool, em suco de laranja armazenado.

Clark et al. (1992), discordaram de Rouself et al. (1992), afirmando que alguns produtos destas reações podem ser erroneamente rotulados de condenáveis devido à presença de impurezas, e que o aroma do α -terpineol puro é floral. Os autores discutiram que tais reações podem ocorrer sempre que condições ácidas ($\text{pH} < 6$) e água estiverem presentes, podendo ocorrer no escuro e levando a sabor diferente, porém não desagradável. Confrontando com reações oxidativas, remararam que estas requerem oxigênio e luz e levam à formação de "off-

flavor". Os autores revisaram extensivamente as reações catalisadas de terpenos em meio ácido.

Tatum et al. (1975) identificaram os compostos α -terpineol, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona e 4-vinil guaiacol (PVG), como os compostos responsáveis pelo "off-flavor" de sucos enlatados de laranja após armazenamento a 35°C por 12 semanas. Os compostos α -terpineol e 4-vinil guaiacol, adicionados isoladamente ao suco fresco, deram ao mesmo um sabor descrito como "de bolor, velho" e de "fruta podre", respectivamente. O volátil 2,5-dimetil-4-OH-3(2H)-furanona foi responsável por um aroma de abacaxi, característico em sucos de laranja armazenados por muito tempo. O composto que causou maior prejuízo ao sabor do suco foi o 4-vinil guaiacol. Adicionados conjuntamente ao suco fresco de laranja, conferiram a este, sabor característico de suco velho que sofreu abuso no tratamento pelo calor. Tatum et al. (1975) sugeriram que estes três compostos poderiam fornecer a base para um teste definitivo de qualidade do suco de laranja.

Rouseff et al. (1992), propuseram um mecanismo pelo qual ácido cinâmico é descarboxilado a fenóis vinílicos sob condição levemente ácida. Naim et al. (1988) após levantarem a hipótese de que o PVG a partir de ácido ferrúlico livre, confirmaram que efetivamente no suco de laranja o PVG se origina de ácido ferrúlico e que sua produção é dependente do tempo e da temperatura de armazenamento. Como a casca contém a maior quantidade do ácido cinâmico quando comparada ao endocarpo e que o flavedo é mais rico em ácidos do que o albedo, o processo tecnológico ao qual a fruta é submetida na indústria pode afetar

a quantidade de ácidos fenólicos que são transferidos ao suco. O "threshold" muito baixo do PVG (0,05 µg/L) e o fato de ocorrerem níveis acima desse "threshold" no suco de laranja fresco comercial, tornam este composto o principal responsável pelo "off-flavor" dos produtos cítricos de qualidade inferior, (Rousself et al. 1992).

Berry et al. (1983) afirmaram que muitos componentes influenciam a qualidade e as características de "flavor" de óleos, de uma maneira sutil ainda não compreendida, incluindo a relação entre os vários componentes e seu efeito na qualidade do sabor. Em alguns tipos de citros, certos compostos foram identificados como predominantes em relação ao sabor, mas as contribuições específicas de todos os componentes para um sabor cítrico balanceado não foram ainda elucidadas.

Processos microbianos podem levar à formação de "off-flavors" e dois produtos metabólicos bem conhecidos, diacetil (2,3-butanodiona) e acetoína (3-OH-2-butano) são produzidos pelas bactérias tolerantes a ácido, *Lactobacillus* e *Leuconostoc*. Diacetil confere ao suco um odor pungente, de manteiga, sendo detectado sensorialmente em concentrações menores que 1 µg/L, constituindo um indicativo de práticas sanitárias inadequadas durante a extração e concentração do suco (Lund e Dismore, 1978).

"Off-flavor" pode também originar-se da degradação de lipídios. Neste caso, a fração responsável pelo "off-flavor" seria a matéria em suspensão no suco, constituída predominantemente por lipídios. Durante o armazenamento, os

fosfolipídios degradam-se formando ácidos graxos livres e outros produtos, (Nagy e Nordby, 1970). "Off-flavor", rancidez ou ambos, são causados por duas reações químicas distintas que podem ocorrer com lipídios; a hidrólise de glicerídeos com a consequente formação de ácidos graxos livres e a oxidação de lipídios que contenham ácidos graxos insaturados resultando na formação de aldeídos, cetonas e ácidos de baixo peso molecular. Por exemplo n-hexanal (graxo e verde), 2-hexenal (folha), n-octanal (graxo, fruta) e n-decanal, produtos de degradação de lipídios que já foram identificados em suco de laranja armazenado, (Rouseff et al. 1992).

Nagy et al. (1989), fizeram uma revisão dos substratos que dão origem a compostos responsáveis pelo sabor associado à deterioração térmica de produtos cítricos. O conjunto de reações conhecidas como escurecimento não enzimático podem levar à formação de furanóis, piróis, ciclopentanonas, carbonila e piranonas, que possuem odores tipicamente descritos como caramelo e açúcar queimado. Compostos sulfurados, presentes no "headspace" de suco fresco, reagem com aldeídos para produzir tioaldeídos, alguns deles possuindo aroma de cebola. Em resumo, os substratos associados ao sabor indesejável de produtos cítricos, são os óleos essenciais, os ácidos fenólicos, açúcares, lipídeos, ácido ascórbico e compostos possuindo enxofre.

Os "off-flavors" oriundos de compostos ainda não identificados foram revistos por Nagy et al. (1989). "Citrus oxydized flavor" ("C.O.F."), que confere ao suco "cardboard flavor" e aroma de óleo de mamona, foi primeiramente percebido

na década de 1950, e aparece esporadicamente em sucos preparados a partir de concentrados. A intensidade do "off-flavor" variou consideravelmente em amostras do mesmo evaporador e tendia a desaparecer após armazenamento prolongado.

Foi sugerido por Blair et al. (1957), que "C.O.F." se originava bioquimicamente, nos estágios da biossíntese de lipídeos a partir de açúcares e envolvia produtos de desidratação, os aldeídos α , β , insaturados. Em 1977, segundo Nagy et al. (1989), estudos sugeriram que o "cardboard off-flavor" ocorreria devido à oxidação de componentes do suco concentrado, porém a natureza exata das substâncias oxidadas e o mecanismo de oxidação ainda não foram elucidados.

O abuso térmico no processamento de sucos cítricos leva a um "off-flavor" descrito como "aquecido", ou "cozido", que prejudica a qualidade dos sucos enlatados e reconstituídos. O agente específico que causa este "off-flavor" ainda não foi identificado, (Nagy et al. 1989).

2.5 - Quimiometria Aplicada a Análise de Alimentos

A quimiometria é uma disciplina que utiliza métodos matemáticos, estatísticos e outros que empregam lógica formal, para se obter o máximo de informação da análise dos dados

químicos e tem encontrado larga aplicação na química analítica, (Massart et al. 1988a).

Os dados analíticos são gerados para caracterizar objetos (ou amostras). Quando são poucos os dados analíticos obtidos, esta caracterização é relativamente simples. Porém, na química analítica moderna, muitos dados referentes a uma mesma amostra são gerados ao mesmo tempo. A análise conjunta dos dados gera melhores resultados, mas exige o uso de técnicas adequadas e computadores para o armazenamento e manuseio dos mesmos. A análise multivariada normal é caracterizada pela análise conjunta dos dados, ao invés da análise individual dos mesmos, (Massart et al. 1988a).

Sendo o sabor um fenômeno complexo, Zervos e Albert (1992), consideraram que a análise de uma variável, individualmente, dificilmente resolveria problemas de classificação de amostras. Os autores afirmaram que "a estatística multivariada é um conjunto de ferramentas que pode ajudar a tratar complexidades e sutilezas, quando o pesquisador tenta analisar, caracterizar e classificar o sabor".

Por outro lado, o progresso na análise instrumental, especialmente em cromatografia gasosa-espectrometria de massas, aliado à eficiência dos computadores para interpretar espectros através dos modernos programas de "library search", permitiu que numerosos compostos do aroma fossem identificados nos alimentos nos últimos anos. Porém, apenas um pequeno número deles foram relatados como compostos de caráter impacto. O aroma da maioria dos alimentos é o resultado de uma mistura de compostos, nenhum

deles possuindo o aroma característico, especialmente em alimentos processados.

Selecionar um composto específico, ou um grupo de compostos como um índice de parâmetros do processamento de um alimento é um dos principais objetivos da pesquisa do sabor. A aplicação de uma análise estatística efetiva é inevitável para correlacionar um composto ou um grupo de compostos à qualidade de aroma do alimento (Aishima, 1985).

A redução do número de variáveis pode ser realizada por técnicas tais como:

- Análise do Componente Principal ou Análise Fatorial - condensa a variabilidade em um número limitado de variáveis, ou seja, permite reduzir o tamanho da matriz de dados e classificar variáveis em grupos de origem e/ou propriedades similares (por exemplo, região geográfica, variedade biológica da matéria prima, estado de maturação, tecnologia aplicada, qualidade, etc..). Este tipo de análise oferece a vantagem de selecionar os descritores mais eficientes, diminuindo os custos e o tempo das análises de certificação de qualidade dos produtos, (Massart et al., 1988b).

Tipicamente, em análise multivariada, as variáveis iniciais individuais são combinadas para formar novas variáveis, as quais tem maior significado. Os coeficientes destas combinações correspondem à importância relativa de cada uma das variáveis originais. Portanto, o valor dos coeficientes fornecem um filtro

para se remover variáveis não significativas, (Zervos e Albert, 1992).

A aplicação da quimiometria à análise de alimentos será exemplificada, a seguir, por algumas pesquisas.

O FDA iniciou em 1984, um extenso programa de pesquisa quimiométrica para explorar a utilidade de vários métodos multivariados, a fim de garantir a qualidade de alimentos, principalmente em relação à autenticidade de sucos de laranja produzidos em diferentes regiões geográficas, com cultivares variadas e sob práticas de agricultura e de processamento diferenciados, (Albert e Zervos, 1989). A análise do componente principal e do valor("Score") discriminante, foram citadas como as mais promissoras para este tipo de problema.

Sawamura et al. (1991), aplicaram a análise multivariada para a classificação de gêneros de citros, relacionados a quimiotaxonomia. As técnicas estatísticas empregadas foram Análise "Cluster", Análise de Componente Principal e Análise Discriminante, aplicadas às porcentagens dos componentes dos óleos prensados a frio, obtidos de diferentes cultivares.

Lin et al. (1993), estabeleceram um método para definir comercialmente o aroma de essência aquosa de laranja, cuja qualidade pode ser influenciada por fatores tais como maturidade, cultivar e método de processamento, utilizando um programa de reconhecimento de padrão. Os resultados da análise sensorial, demonstraram que um painel bem treinado podia efetivamente distinguir essências de boa qualidade de aroma, das

essências de qualidade inferior. Amostras com "off-aroma" foram facilmente diferenciadas e colocadas em categorias distintas. No entanto, amostras com bom aroma, porém não facilmente discerníveis entre si, dificultaram a subdivisão e classificação em categorias distintas de "boa qualidade". Uma melhor diferenciação dos aromas de boa qualidade, foi possível pela aplicação de análise multivariada aos dados cromatográficos. Assim, enquanto a análise descritiva quantitativa não permitiu a separação das propriedades contínuas de sabor, os dados analíticos precisos obtidos da cromatografia gasosa forneceram o meio para este tipo de resolução.

Submetendo-se dados analíticos, ou seja, áreas de picos resultantes de análise cromatográfica, à análise de componente principal, foi possível verificar a diluição, mistura ou contaminação em cinco categorias de "whiskeys". Esta técnica pode ser aplicada na indústria de alimentos ou em qualquer outra área, a uma larga variedade de problemas analíticos incluindo controle de qualidade e variações durante a estocagem, (Headley e Hardy, 1989).

Harayama et al. (1991) detectaram, por cromatografia gasosa, 72 picos no "headspace" de amostras de cerveja, cujas áreas foram utilizadas como variáveis da análise estatística multivariada, para a avaliação do "off-flavor" desenvolvido durante a estocagem. A Análise Fatorial, mostrou que o Segundo Fator indicava o tempo de estocagem da cerveja. Devido a complicada correlação entre os picos da análise cromatográfica, os autores não conseguiram obter uma conclusão razoável para explicar o Primeiro Fator. Baseando-se nos 12 picos extraídos

pelo Segundo Fator, altamente correlacionado com o tempo de estocagem, a análise discriminante selecionou 4 picos, os quais discriminaram as amostras com 88% de confiabilidade.

A Análise Fatorial, foi utilizada por McLellan et al. (1984), para definir os componentes sensoriais que melhor justificassem as diferenças entre a polpa de maçã e a maçã em pedaços, de diferentes cultivares. Segundo os autores, a técnica Análise Fatorial tem sido sugerida como um instrumento pelo qual pode ser identificado um número relativamente pequeno de componentes ou fatores, que podem ser usados para substituir um grande arranjo de dados e ainda considerar uma grande quantidade de variações, como por exemplo no caso de dados obtidos por análise sensorial.

Aishima (1995) empregou análises discriminante e "cluster" para diferenciar o aroma característico de cinco marcas de molho "worcestershire", utilizando como variáveis a porcentagem relativa de 85 picos. O autor concluiu que a análise multivariada com combinações de técnicas apropriadas, poderia ser uma ferramenta muito útil na pesquisa do sabor, como também na manufatura de alimentos processados. Uma das aplicações industriais da análise estatística multivariada pode ser exemplificada com um problema de qualidade na produção de cerveja da companhia "Miller", (Powers, 1982). Observou-se que três de suas fábricas produziam cervejas com qualidade diferentes, como atestado pelo painel sensorial da companhia que preferia a cerveja da fábrica "P". Baseados na análise do "headspace" e na análise discriminante, mudanças foram iniciadas no processamento da planta "H" para tornar a cerveja desta igual

à produzida na unidade "P". Após as mudanças, o método químico-estatístico sugeriu que as cervejas das plantas "P" e "H" ainda diferiam levemente, porém o painel sensorial não conseguiu distinguir entre elas. A cerveja produzida na planta "H" igualou-se sensorialmente à da planta "P", considerada um padrão de qualidade pela referida companhia.

Em resumo, a introdução de pacotes estatísticos e o uso de computadores no laboratório para armazenar e manipular um número muito grande de dados, gerado pela moderna química analítica, permitiu que técnicas estatísticas multivariadas, antes complexas, fossem realizadas com relativa facilidade.

Problemas complexos de ordem química, bioquímica ou fisiológica, foram resolvidos em tempos menores, com sucesso, incentivando cada vez mais o uso de técnicas matemáticas sofisticadas. Já foram coletados mais de duzentas referências com aplicações de técnicas estatísticas multivariadas na pesquisa e desenvolvimento de alimentos, (Martes e Harries, 1983).

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Seleção da Matéria Prima

Foi estudado o óleo d-limoneno de 2 unidades produtoras, "A" e "B", localizadas em cidades distintas no interior do Estado de São Paulo.

Em ambas, o referido produto foi obtido como descrito a seguir:

Após a extração do suco nas extratoras do tipo "FMC", cascas, polpas e sementes foram conduzidas por esteira transportadora até um depósito de bagaço, de onde foram retiradas via roscas transportadoras, receberam adição de hidróxido de cálcio (0,3%) e foram conduzidas a fragmentadores responsáveis pela redução dos sólidos a pequenos pedaços. A elevada alcalinidade promove uma rápida degradação e demetilação da pectina da casca, resultando em sinerese. A mistura foi então submetida à primeira prensagem onde a umidade inicial (82%) foi reduzida para 72%. Na segunda prensagem a umidade caiu para 66%. Os licores obtidos na primeira e segunda prensagem foram peneirados e bombeados para os evaporadores. O licor foi concentrado em evaporador tipo "Waste", de 12° para 40° Brix e os vapores liberados na concentração foram condensados,

resultando numa emulsão óleo água. O óleo foi separado por decantação sendo chamado de "óleo d-limoneno".

As amostras de óleo d-limoneno obtidas na unidade fabril "A", com capacidade produtiva de 28 toneladas/dia de óleo d-limoneno, apresentavam odor não característico, enquanto as amostras da unidade fabril "B", com capacidade produtiva de 11 toneladas/dia de óleo d-limoneno, apresentavam excelente qualidade de odor, conforme julgadas por uma equipe de provadores treinados.

As amostras de óleo d-limoneno foram coletadas simultaneamente nas unidades "A" e "B", nas safras de 1991 (50 amostras nos meses de setembro a novembro) e 1994 (56 amostras nos meses de setembro a novembro).

3.2 - Amostragem

Durante a safra de 1991, na indústria cítrica "A", foram coletadas em dias de produção não consecutivos, 25 amostras de óleo d-limoneno apresentando odor não característico, e paralelamente nas mesmas condições na unidade produtora "B", foram coletadas 25 amostras de óleo d-limoneno consideradas de alta qualidade de odor. As 50 amostras de óleo d-limoneno foram coletadas aproximadamente de hora em hora (alíquotas de 50ml) do tanque separador do evaporador "Waste" e colocadas em um

frasco com tampa, do qual após 24 horas uma amostra de 50ml foi retirada e considerada representativa do dia de produção. As cinquenta amostras coletadas foram sendo armazenadas a -5°C para posterior análise em duplicata.

Durante a safra de 1994, nas mesmas condições descritas para 1991, 28 amostras do óleo d-limoneno foram coletadas nas unidades produtoras "A" e "B", sendo as 56 amostras armazenadas a -5°C para análise posterior.

3.3 - Isolamento dos Voláteis

Para o estudo dos componentes do óleo d-limoneno foi utilizada análise total. Sendo o óleo d-limoneno obtido da condensação de voláteis emanados de evaporadores durante a concentração do "licor", a etapa de isolamento não foi necessária, adotando-se a introdução direta no cromatógrafo gasoso.

3.4 - Cromatografia Gasosa

O instrumento usado foi um cromatógrafo a gás CG Advance, modelo 500 A, com detector de ionização de chama e injetor tipo "split". Para obtenção da porcentagem relativa dos componentes, foi usado um integrador CG, modelo 300.

As condições da análise em coluna capilar de sílica fundida de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno, com fase líquida FI 95 (polimetilfenilsiloxana), foram:

- Gás de arraste: hidrogênio, com pressão de 71bf/pol²;
- "Make-up" gás: nitrogênio, com fluxo de 30 ml/min.;
- Fluxo de hidrogênio no detector: 30 ml/min.;
- Fluxo de ar no detector: 300 ml/min.;
- Tipo de injeção: "split";
- Razão "split": 1:100;
- Volume injetado: 1 µl;
- Temperatura do detector: 200°C;
- Temperatura do injetor: 210°C;
- Temperatura da coluna: 75°C por 4 minutos e programação de 4°C/min. até 190°C por 11,5 minutos.

3.5 - Identificação dos Componentes

Os componentes das amostras foram identificados utilizando-se espectrometria de massas, comparação do tempo de retenção entre amostras e padrões, técnica de co-eluição de padrões junto com a amostra ("spiking") e índice de Kovats.

Foram utilizados padrões puros das marcas "Roth", "Dierberger", "Merck", "Kodak", "Aldrich Chemie" e "Fluka Chemie".

3.5.1 - Determinação dos índices de Kovats

Uma mistura de padrões de alcanos (C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆) foi adicionada ao óleo d-limoneno, sendo uma alíquota desta mistura injetada no cromatógrafo, nas condições cromatográficas estabelecidas neste estudo. Os índices de Kovats obtidos foram utilizados para ajudar na tentativa de identificação dos componentes pela comparação da ordem de eluição destes com a ordem de eluição relatada na literatura. A fórmula para o índice de Kovats esta representada a seguir:

$$I_a^b = 100N + 100n \frac{(\log t'_r(A) - \log t'_r(N))}{(\log t'_r(N+n) - \log t'_r(N))}$$

onde "I" é o índice de retenção na fase líquida "a" e na temperatura "b", e " $t'_r(N)$ " e " $t'_r(N+n)$ " são os tempos de retenção corrigidos dos hidrocarbonetos de números de átomos de carbono "N" e "N+n", que são, respectivamente, menor e maior do que o tempo de retenção corrigido do composto desconhecido, " $t'_r(A)$ ".

3.5.2 - Espectrometria de massas

O óleo d-limoneno foi analisado em um cromatógrafo gasoso Hewlett-Packard modelo 5890, equipado com um detector de massas HP-MSD-5970. A coluna de sílica fundida SPB-5 (polidifenildimetilsiloxana) de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, foi programada a 40°C por 4 minutos e 5°C por minuto, até 180°C por 10 minutos. Alguns parâmetros importantes empregados em espectrometria de massas:

- Gás de arraste: hidrogênio a 1 ml/min
- Velocidade linear do gás de arraste: 33 cm/seg
- Temperatura do injetor: 250°C
- Temperatura do detector: 250°C
- Voltagem de ionização: 70 eV

3.6 - Avaliação Sensorial

3.6.1 - Teste de qualidade

As amostras coletadas nas duas unidades produtoras foram avaliadas sensorialmente, quanto a qualidade de odor, por um painel de 6 provadores treinados. Foi feita uma sessão diária para cada duas amostras, sendo uma de cada unidade produtora. As amostras foram apresentadas, no laboratório de controle de qualidade de uma das unidades produtoras, à temperatura ambiente, em béqueres devidamente codificados com 3 dígitos sendo que, cada provador avaliou individualmente as amostras utilizando escala aberta de 7 pontos, através de um delineamento em blocos ao acaso. O modelo da ficha utilizada para o teste de qualidade é mostrado abaixo.

TESTE DE QUALIDADE	
ÓLEO D-LIMONENO	
NOME: _____	DATA: _____
As amostras oferecidas serão comparadas quanto ao odor.	
Por favor, após cheirar as amostras dê uma nota de 1 a 7 para cada uma delas.	
345	_____
617	_____
Comentários: _____	

3.6.2 - "sniffing" (GC-olfatometria)

A técnica do "sniffing" (GC-olfatometria) foi utilizada na tentativa de localizar no cromatograma do óleo d-limoneno, o qual possuía odor não característico, o(s) componente(s) que poderiam estar causando odor estranho e também para verificar a contribuição individual dos componentes no aroma total do produto.

Um tubo de sílica fundida desativada (L.M.-Brasil) foi colocado antes do detector para permitir que o odor individual de cada composto emergente da coluna cromatográfica fosse avaliado sensorialmente. Um "splitter", de volume morto mínimo, inteiramente revestido em vidro (SGE, Austrália), foi colocado entre a coluna e o detector para dividir o efluente entre a saída atmosférica e o detector.

A avaliação sensorial dos voláteis presentes no efluente cromatográfico foi efetuada por uma equipe de seis provadores não treinados, os quais utilizaram seus próprios termos verbais, para descrever a qualidade do odor de cada composto. Foram feitas 6 avaliações do óleo d-limoneno. Cada provador cheirava durante 7 minutos para diminuir o efeito desagradável do nitrogênio na membrana nasal. Os provadores foram distribuídos de maneira que não cheirassem a mesma região do cromatograma.

3.7 - Análise Estatística

3.7.1 - Análise de variância

Os dados obtidos no teste de qualidade foram analisados por análise de variância (ANOVA).

3.7.2 - Análise estatística multivariada

Para verificar diferenças na composição quantitativa dos voláteis dos óleos provenientes das duas unidades produtoras, os dados obtidos dos cromatogramas foram analisados pela técnica Estatística Multivariada de Análise Fatorial com rotação promax, após transformação logarítmica da porcentagem relativa de 84 componentes do óleo d-limoneno. Utilizou-se o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System).

As amostras foram codificadas de acordo com categorias de qualidade de aroma, origem e ano. As categorias de qualidade de aroma foram definidas em intervalos de 0,5. Letras minúsculas foram utilizadas para o ano de 1991, letras maiúsculas para o ano de 1994. Amostras procedentes da unidade produtora "A" foram codificadas como as letras A, B, C, D, E, F, G e H. Amostras procedentes da unidade produtora "B" foram codificadas

com as letras S, T, U, V, W, X, Y e Z. Assim, obteve-se as amostras codificadas que estão representadas na tabela 8.

Tabela 8 - CATEGORIAS DA QUALIDADE DE AROMA

QUALIDADE	UNIDADE PRODUTORA			
	A		B	
	SAFRA		SAFRA	
	94	91	94	91
3,0 - 3,5	A	a	S	s
3,5 - 4,0	B	b	T	t
4,0 - 4,5	C	c	U	u
4,5 - 5,0	D	d	V	v
5,0 - 5,5	E	e	W	w
5,5 - 6,0	F	f	X	x
6,0 - 6,5	G	g	Y	y
6,5 - 7,0	H	h	Z	z

Assim, por exemplo, uma amostra codificada como "C", significa possuir nota de qualidade de aroma entre 4,0 e 4,5, pertencer a unidade produtora "A" correspondendo à safra do ano de 1994.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Composição de Voláteis do Óleo D-limoneno

4.1.1 - Porcentagens relativas de alguns componentes do óleo d-limoneno.

As análises cromatográficas das amostras de óleos d-limoneno, realizadas em colunas capilares de sílica fundida, resultaram na separação e detecção de 84 componentes.

As figuras 2 e 3 mostram os cromatogramas típicos do óleo d-limoneno das unidades "A" e "B", respectivamente. Observa-se que não há diferenças facilmente discerníveis entre os dois cromatogramas.

As tabelas 9 e 10 mostram as porcentagens relativas dos componentes das amostras coletadas nas unidades produtoras "A" e "B", respectivamente, nos 2 anos estudados. Nas referidas tabelas, para alguns compostos não foi calculado o valor da média das porcentagens relativas (M), pois picos com áreas perto do limite de integração às vezes apareceram apenas como traços, o que não possibilita sua integração.

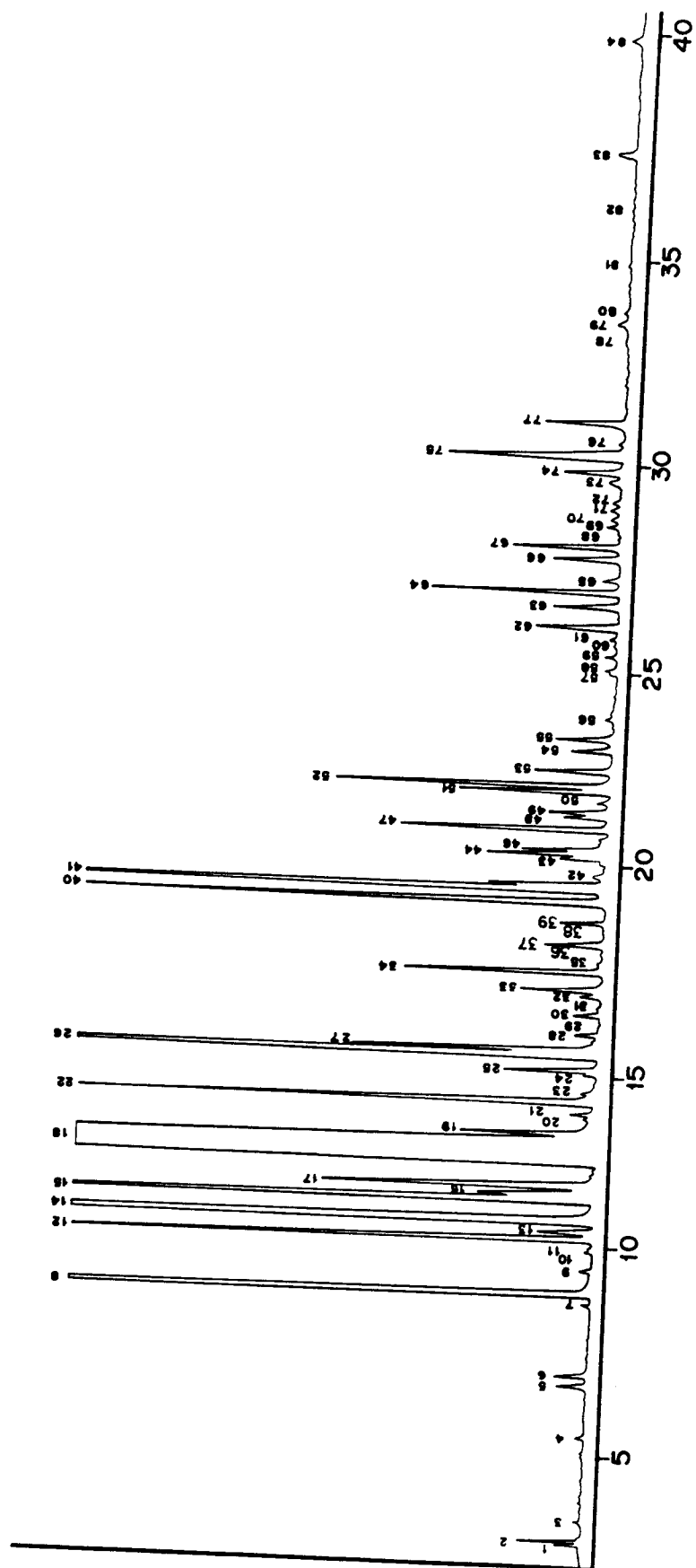


Figura: 2 - Cromatograma típico do óleo D-LIMONENO "A"

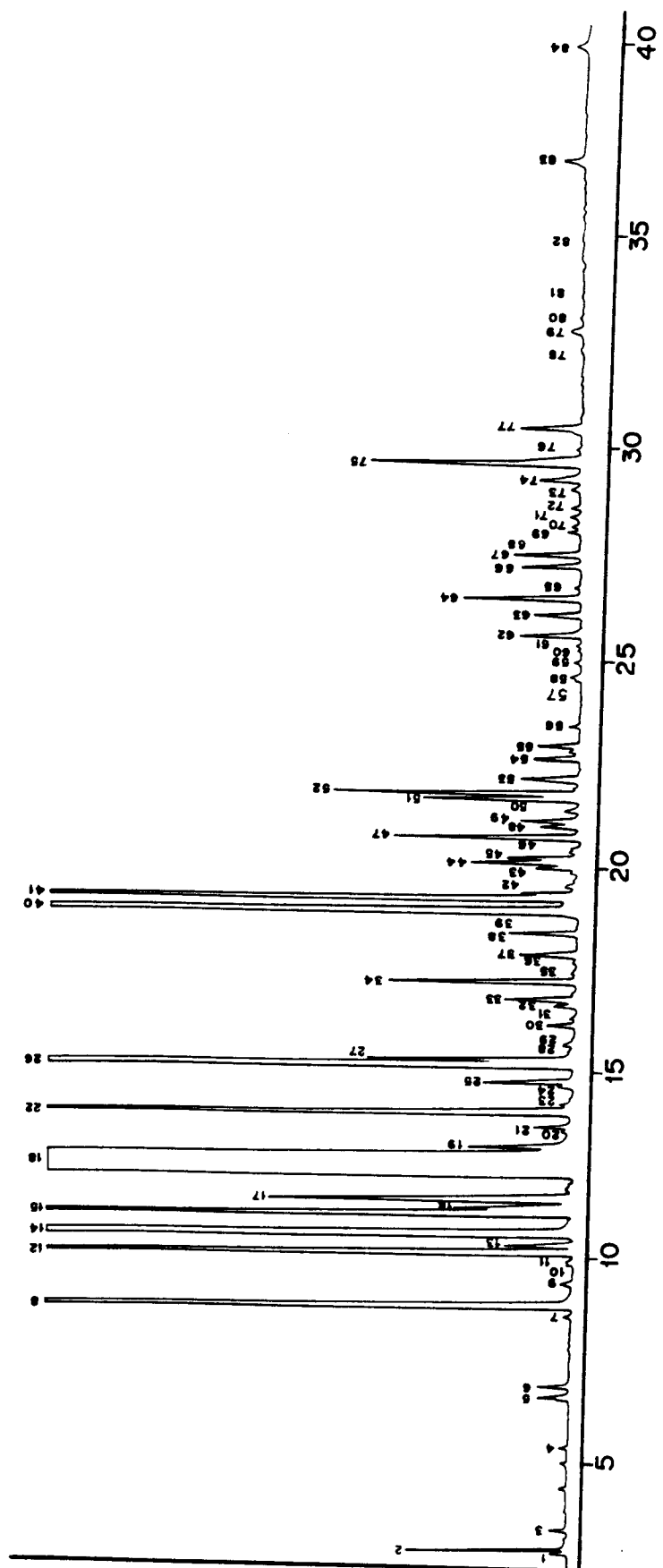


Figura: 3- Cromatograma típico do óleo D-LIMONENO "B"

Tabela 9 - PORCENTAGENS RELATIVAS DOS COMPONENTES VOLÁTEIS DO
ÓLEO D-LIMONENO PROVENIENTE DA UNIDADE PRODUTORA "A".

Pico Nº	Tr (min)	SAFRA 1991			SAFRA 1994			TOTAL		
		M	AMPLITUDE		M	AMPLITUDE		M	AMPLITUDE	
1	3,05	0,002	0,001	0,003	---	tr	0,008	---	tr	0,008
2	3,14	0,014	0,005	0,033	0,007	tr	0,026	0,011	tr	0,033
3	3,65	0,001	tr	0,002	0,003	tr	0,007	0,002	tr	0,007
4	5,79	0,001	tr	0,002	---	tr	0,002	---	tr	0,002
5	7,10	0,007	0,005	0,009	---	tr	0,021	---	tr	0,021
6	7,36	0,006	0,005	0,008	---	tr	0,022	---	tr	0,022
7	9,13	0,002	0,001	0,002	0,002	tr	0,004	0,002	tr	0,004
8	9,42	0,495	0,454	0,556	0,508	0,394	0,794	0,502	0,394	0,794
9	9,97	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,005	0,003	0,002	0,005
10	10,42	0,001	tr	0,003	---	tr	0,001	---	tr	0,003
11	10,47	0,002	tr	0,003	---	tr	0,001	---	tr	0,003
12	10,77	0,177	0,158	0,196	0,213	0,143	0,372	0,195	0,143	0,372
13	10,96	0,015	0,014	0,017	0,017	0,014	0,025	0,016	0,014	0,025
14	11,27	1,918	1,861	1,974	1,890	1,750	2,092	1,904	1,750	2,092
15	11,77	0,191	0,132	0,243	0,051	0,017	0,216	0,121	0,017	0,243
16	11,91	0,037	0,033	0,040	0,041	0,035	0,052	0,039	0,033	0,052
17	12,13	0,104	0,094	0,134	0,142	0,096	0,246	0,123	0,094	0,246
18	13,36	94,874	94,558	95,124	95,548	94,353	95,918	95,211	94,353	95,918
19	13,52	0,046	0,013	0,078	0,036	0,028	0,049	0,041	0,013	0,078
20	13,91	0,004	0,001	0,013	0,004	tr	0,010	0,004	tr	0,013
21	14,01	0,010	0,003	0,017	0,016	0,007	0,023	0,013	0,003	0,023
22	14,37	0,182	0,129	0,268	0,077	0,032	0,218	0,129	0,032	0,268
23	14,58	0,005	0,001	0,010	---	tr	tr	---	tr	0,010
24	14,90	---	tr	0,002	---	tr	tr	---	tr	0,002
25	15,16	0,028	0,023	0,032	0,038	0,025	0,056	0,033	0,023	0,056
26	15,58	0,607	0,543	0,928	0,214	0,078	0,740	0,410	0,078	0,928
27	15,70	0,046	0,040	0,055	0,025	0,015	0,055	0,036	0,015	0,055
28	15,94	0,002	tr	0,006	0,001	tr	0,002	0,001	tr	0,006
29	16,08	0,005	0,004	0,008	0,006	0,004	0,016	0,006	0,004	0,016
30	16,57	0,008	0,006	0,010	0,006	0,001	0,022	0,007	0,001	0,022
31	16,72	0,001	0,001	0,002	0,003	tr	0,014	0,002	tr	0,014
32	17,04	0,006	0,004	0,010	0,004	0,001	0,017	0,005	0,001	0,017
33	17,20	0,022	0,019	0,025	0,010	0,002	0,040	0,016	0,002	0,040
34	17,66	0,042	0,033	0,050	0,019	0,008	0,051	0,030	0,008	0,051
35	17,85	0,002	0,001	0,003	0,001	tr	0,003	0,001	tr	0,003
36	18,10	0,001	0,001	0,002	---	tr	0,016	---	tr	0,016
37	18,30	0,018	0,011	0,028	0,013	tr	0,019	0,015	tr	0,028
38	18,40	---	tr	0,002	---	tr	0,003	---	tr	0,003
39	18,83	0,010	0,008	0,012	0,015	0,007	0,030	0,013	0,007	0,030
40	19,37	0,174	0,018	0,438	0,185	0,046	0,565	0,180	0,018	0,565
41	19,69	0,285	0,245	0,362	0,218	0,069	0,298	0,251	0,069	0,326
42	19,98	0,006	0,005	0,008	0,004	0,001	0,009	0,005	0,001	0,009
43	20,47	0,009	0,002	0,046	---	tr	0,061	---	tr	0,061
44	20,58	0,039	0,021	0,056	0,032	tr	0,074	0,035	tr	0,074

45	20,69	0,021	0,003	0,026	----	tr	0,061	----	tr	0,061
46	20,94	0,005	0,003	0,007	----	tr	0,009	----	tr	0,009
47	21,24	0,050	0,002	0,058	0,026	0,011	0,072	0,038	0,002	0,071
48	21,52	0,016	0,011	0,058	0,015	0,002	0,031	0,016	0,002	0,058
49	21,65	0,017	0,012	0,022	0,015	0,004	0,033	0,016	0,004	0,033
50	21,91	0,004	0,003	0,019	0,003	tr	0,004	0,004	tr	0,019
51	22,20	0,043	0,022	0,070	0,021	tr	0,058	0,032	tr	0,070
52	22,34	0,070	0,059	0,080	0,060	0,031	0,127	0,065	0,031	0,127
53	22,73	0,024	0,020	0,028	0,018	0,008	0,046	0,021	0,008	0,046
54	23,25	0,014	0,011	0,016	0,010	tr	0,019	0,012	tr	0,019
55	23,56	0,018	0,014	0,021	0,020	0,006	0,029	0,019	0,006	0,029
56	24,06	0,03	0,002	0,004	0,002	0,001	0,004	0,002	0,001	0,004
57	25,19	0,001	0,001	0,002	----	tr	tr	----	tr	0,002
58	25,31	0,005	0,003	0,007	0,005	0,002	0,008	0,005	0,002	0,008
59	25,67	0,004	0,002	0,004	0,004	0,001	0,005	0,004	0,001	0,005
60	26,08	0,002	0,001	0,002	----	tr	0,008	----	tr	0,008
61	26,11	0,002	0,001	0,003	0,004	tr	0,008	0,003	tr	0,008
62	26,38	0,021	0,001	0,025	0,027	tr	0,008	0,024	tr	0,045
63	26,87	0,019	0,015	0,022	0,023	0,001	0,035	0,021	0,001	0,035
64	27,27	0,043	0,034	0,052	0,048	0,009	0,073	0,046	0,009	0,073
65	27,55	0,004	0,002	0,006	0,004	0,001	0,007	0,004	0,001	0,007
66	28,09	0,018	0,015	0,022	0,024	0,010	0,043	0,021	0,010	0,043
67	28,38	0,026	0,020	0,032	0,031	0,008	0,045	0,028	0,008	0,045
68	28,64	----	tr	0,002	0,001	tr	0,002	----	tr	0,002
69	28,92	0,003	0,002	0,005	0,007	0,001	0,011	0,005	0,001	0,011
70	29,09	0,003	0,002	0,004	0,004	0,001	0,007	0,003	0,001	0,007
71	29,31	0,004	0,003	0,005	0,006	0,003	0,011	0,005	0,003	0,011
72	29,50	0,003	0,001	0,005	0,006	0,001	0,012	0,004	0,001	0,012
73	29,99	0,005	0,004	0,007	0,008	0,002	0,016	0,007	0,002	0,016
74	30,24	0,020	0,016	0,023	0,026	0,009	0,044	0,023	0,009	0,044
75	30,64	0,069	0,056	0,078	0,078	0,029	0,144	0,074	0,029	0,144
76	31,00	0,002	0,001	0,002	0,002	0,001	0,004	0,002	0,001	0,004
77	31,53	0,025	0,020	0,029	0,034	0,011	0,062	0,030	0,011	0,062
78	33,57	0,002	tr	0,003	0,002	tr	0,004	0,002	tr	0,004
79	34,03	0,006	0,004	0,008	0,008	0,002	0,025	0,007	0,002	0,025
80	34,33	0,001	0,001	0,002	0,002	tr	0,006	0,002	tr	0,006
81	34,80	----	tr	0,002	0,002	tr	0,005	----	tr	0,005
82	36,71	----	tr	0,002	0,001	tr	0,003	----	tr	0,003
83	38,43	0,008	0,006	0,010	0,015	0,001	0,028	0,012	0,001	0,028
84	41,40	0,006	0,004	0,008	0,011	tr	0,020	0,009	tr	0,020

Tr = Tempo de Retenção (minutos)

M = Média das % relativas obtidas nos 78 cromatogramas (1991 e 1994)

Amplitude = % relativas mínima e máxima obtidas nos 78 cromatogramas

tr = componente traço (% relativa menor que 0,001)

Tabela 10 - PORCENTAGENS RELATIVAS DOS COMPONENTES VOLÁTEIS DO ÓLEO D-LIMONENO PROVENIENTE DA UNIDADE PRODUTORA "B".

Pico Nº	Tr (min)	SAFRA 1991			SAFRA 1994			TOTAL		
		M	AMPLITUDE		M	AMPLITUDE		M	AMPLITUDE	
1	2,93	0,002	0,001	0,004	0,002	tr	0,006	0,002	tr	0,006
2	3,01	0,005	0,001	0,020	0,008	tr	0,016	0,007	tr	0,020
3	3,49	—	tr	0,002	—	tr	0,001	—	tr	0,002
4	5,17	—	tr	0,004	—	tr	0,001	—	tr	0,004
5	6,80	0,007	0,004	0,008	0,005	0,003	0,007	0,006	0,003	0,009
6	7,10	0,007	0,005	0,008	—	0,004	0,085	—	0,004	0,085
7	8,83	0,002	0,001	0,002	0,003	0,002	0,005	0,002	0,001	0,005
8	9,12	0,477	0,428	0,544	0,483	0,435	0,598	0,480	0,428	0,598
9	9,66	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004
10	10,15	0,001	0,001	0,003	0,001	tr	0,001	0,001	tr	0,003
11	10,22	0,002	0,001	0,004	0,001	tr	0,002	0,001	tr	0,004
12	10,44	0,221	0,197	0,240	0,339	0,291	0,429	0,280	0,197	0,429
13	10,63	0,017	0,016	0,019	0,022	0,019	0,027	0,020	0,016	0,027
14	10,94	1,908	1,850	1,950	1,848	1,769	1,963	1,878	1,769	1,963
15	11,44	0,160	0,044	0,398	0,084	0,013	0,222	0,122	0,013	0,398
16	11,56	0,037	0,034	0,040	0,036	0,028	0,040	0,036	0,028	0,040
17	11,78	0,115	0,102	0,122	0,113	0,090	0,160	0,114	0,090	0,160
18	12,95	94,669	94,224	94,900	94,855	94,500	95,104	94,762	94,224	95,104
19	13,15	0,041	0,010	0,066	0,037	0,030	0,054	0,039	0,010	0,066
20	13,56	0,003	0,001	0,008	0,003	tr	0,007	0,003	tr	0,008
21	13,64	0,010	0,003	0,020	0,013	0,006	0,061	0,011	0,003	0,061
22	14,00	0,284	0,035	0,435	0,299	0,219	0,379	0,291	0,035	0,435
23	14,20	—	tr	0,012	—	tr	tr	—	tr	0,012
24	14,57	—	tr	0,003	—	tr	tr	—	tr	0,003
25	14,77	0,028	0,023	0,034	0,029	0,022	0,039	0,028	0,022	0,039
26	15,20	0,696	0,619	0,785	0,652	0,516	0,812	0,674	0,516	0,812
27	15,31	0,037	0,025	0,065	0,022	tr	0,046	0,029	tr	0,065
28	15,70	0,001	tr	0,003	—	tr	0,002	—	tr	0,003
29	15,75	0,004	0,003	0,009	0,004	0,002	0,007	0,004	0,002	0,009
30	16,17	0,010	0,007	0,019	0,012	0,006	0,022	0,011	0,006	0,022
31	16,35	—	tr	0,005	—	tr	0,010	—	tr	0,010
32	16,65	—	0,005	0,112	0,012	0,005	0,066	—	0,005	0,112
33	16,81	0,026	0,021	0,035	0,026	0,019	0,038	0,026	0,019	0,038
34	17,27	0,041	0,003	0,063	0,030	0,016	0,041	0,036	0,003	0,063
35	17,46	—	0,002	0,046	0,002	0,001	0,009	—	0,001	0,046
36	17,70	0,002	0,001	0,003	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,003
37	17,91	0,026	0,010	0,043	0,030	0,019	0,041	0,028	0,010	0,043
38	18,23	—	tr	0,002	—	tr	0,004	—	tr	0,004
39	18,43	0,010	0,006	0,019	0,012	0,008	0,014	0,011	0,006	0,019
40	18,98	0,177	0,108	0,602	0,102	0,073	0,139	0,140	0,073	0,602
41	19,28	0,248	0,191	0,323	0,175	0,125	0,225	0,212	0,125	0,323
42	19,58	0,007	0,005	0,008	0,006	0,004	0,007	0,006	0,004	0,008
43	20,06	0,008	0,001	0,019	0,011	tr	0,019	0,009	tr	0,019
44	20,17	0,045	0,014	0,086	0,045	0,019	0,116	0,045	0,014	0,116

45	20,28	0,020	0,016	0,047	0,034	tr	0,057	0,027	tr	0,057
46	20,43	0,006	0,003	0,009	---	tr	0,010	---	tr	0,010
47	20,82	0,059	0,052	0,070	0,049	0,035	0,058	0,054	0,035	0,070
48	21,10	0,014	0,010	0,024	0,016	0,008	0,031	0,015	0,008	0,031
49	21,24	0,020	0,013	0,026	0,030	0,018	0,047	0,025	0,013	0,047
50	21,50	0,005	0,003	0,007	---	tr	0,019	---	tr	0,019
51	21,78	0,063	0,014	0,133	0,048	tr	0,093	0,055	tr	0,133
52	21,92	0,078	0,067	0,095	0,096	0,064	0,133	0,087	0,064	0,133
53	22,30	0,022	0,019	0,026	0,024	0,021	0,031	0,023	0,019	0,031
54	22,82	0,016	0,013	0,019	0,015	0,010	0,022	0,015	0,010	0,022
55	22,12	0,014	0,011	0,017	0,014	0,005	0,020	0,014	0,005	0,020
56	23,64	0,003	0,001	0,005	0,002	0,001	0,004	0,002	0,001	0,005
57	24,56	---	tr	0,005	---	tr	tr	---	tr	0,005
58	24,86	0,005	0,003	0,007	0,004	0,001	0,006	0,005	0,001	0,007
59	25,23	0,003	0,002	0,004	0,003	0,002	0,006	0,003	0,002	0,006
60	25,50	0,002	0,001	0,003	---	tr	0,002	---	tr	0,003
61	25,65	0,002	0,001	0,003	0,005	0,003	0,006	0,003	0,001	0,006
62	25,92	0,019	0,016	0,022	0,019	0,013	0,023	0,019	0,013	0,023
63	26,41	0,017	0,014	0,020	0,016	0,011	0,018	0,016	0,011	0,020
64	26,82	0,040	0,034	0,047	0,033	0,026	0,041	0,037	0,026	0,047
65	27,09	0,002	0,001	0,004	---	0,001	0,019	---	0,001	0,019
66	27,61	0,019	0,016	0,022	0,019	0,013	0,024	0,019	0,013	0,024
67	27,90	---	0,020	0,240	0,021	0,001	0,028	---	0,001	0,240
68	28,15	---	tr	0,004	0,001	tr	0,002	---	tr	0,004
69	28,46	0,004	0,003	0,005	0,008	0,005	0,011	0,006	0,003	0,011
70	28,62	0,003	0,003	0,005	0,004	0,002	0,006	0,004	0,002	0,006
71	28,83	0,004	0,001	0,005	0,004	0,003	0,006	0,004	0,001	0,006
72	29,05	0,003	0,001	0,007	0,005	tr	0,008	0,004	tr	0,008
73	29,51	0,005	0,004	0,008	0,006	0,004	0,008	0,006	0,004	0,008
74	29,76	0,019	0,015	0,023	0,018	0,013	0,022	0,018	0,013	0,023
75	30,15	0,088	0,079	0,107	0,082	0,058	0,104	0,085	0,058	0,107
76	30,50	0,002	0,001	0,002	0,001	tr	0,002	0,002	tr	0,002
77	31,04	0,023	0,020	0,027	0,022	0,002	0,028	0,023	0,002	0,028
78	32,82	0,001	tr	0,002	---	tr	0,006	---	tr	0,006
79	33,46	0,006	0,002	0,009	0,005	tr	0,007	0,005	tr	0,009
80	33,78	0,002	0,001	0,006	0,002	0,001	0,011	0,002	0,001	0,011
81	34,71	---	0,001	0,001	0,001	tr	0,001	---	tr	0,001
82	35,33	---	tr	0,003	0,001	tr	0,002	---	tr	0,003
83	37,72	0,010	0,008	0,013	0,013	0,007	0,022	0,012	0,007	0,022
84	40,59	0,007	0,005	0,008	0,008	0,004	0,013	0,007	0,004	0,013

Tr = Tempo de Retenção (minutos)

M = Média das % relativas obtidas nos 78 cromatogramas (1991 e 1994)

Amplitude = % relativas mínima e máxima obtidas nos 78 cromatogramas

tr = componente traço (% relativa menor que 0,001)

4.1.2 - Identificação de alguns compostos do óleo d-limoneno

Os dados da fragmentação de alguns dos componentes voláteis do óleo d-limoneno e os "índices de Kovats", obtidos neste estudo, são apresentados nas tabelas 11 e 12 juntamente com os fragmentos majoritários e os "Índice de Kovats" obtidos da literatura.

Sugisawa et al. (1989) utilizaram coluna capilar com fase ligada OV-101 (80°C a 200°C, 2°C/min) para obtenção dos "índices de Kovats". Não houve boa resolução dos componentes do óleo d-limoneno nestas condições e sim sobreposição de picos, o que impossibilitou a obtenção dos "índices de Kovats" nas temperaturas citadas por Sugisawa et al.. Assim os valores obtidos para cada composto, não se igualam aos valores da literatura citada, e são válidos apenas como uma referência para a ordem de eluição dos compostos, já que utilizou-se o mesmo tipo de fase estacionária, isto é apolar.

Na tabela 11 os dados são referentes apenas aos componentes considerados positivamente identificados, por comparação com os espectros obtidos da literatura (Stenhagen et al., 1974 e Eight Peak Index, 1970), pela utilização de padrões puros e por comparação dos "índices de Kovats" (Sugisawa et al., 1989) para confirmação da ordem de eluição dos compostos.

Tabela 11 - IONS MAJORITÁRIOS PROVENIENTES DA FRAGMENTAÇÃO DE
ALGUNS COMPOSTOS VOLÁTEIS POSITIVAMENTE
IDENTIFICADOS NO ÓLEO D-LIMONENO.

PICO COMPOSTO IK			M/Z(Abundância Relativa)								
13	β -Pineno	*	1142	93(100)	91(49)	77(46)	79(34)	41(24)	39(18)	92(15)	94(14)
		**	A	93(100)	77(32)	91(30)	41(27)	79(24)	39(16)	136(15)	94(14)
14	Mirceno	*	1158	41(100)	93(95)	69(84)	39(35)	91(26)	79(22)	77(21)	67(19)
		**	981	41(100)	93(86)	69(80)	39(30)	27(28)	53(14)	79(14)	77(11)
15	n-Octanal	*	1161	43(100)	57(89)	56(84)	68(84)	44(79)	55(70)	84(62)	29(52)
		**	985	43(100)	41(91)	29(91)	44(74)	57(54)	55(54)	56(53)	84(45)
18	Limoneno	*	1171	68(100)	67(83)	93(69)	39(52)	79(46)	41(40)	53(37)	94(30)
		**	1029	68(100)	93(53)	67(50)	39(29)	79(25)	53(25)	27(22)	94(20)
21	γ -Terpineno	*	1177	93(100)	91(64)	77(45)	79(30)	92(28)	136(26)	121(25)	41(23)
		**	1053	93(100)	91(33)	77(32)	136(29)	121(27)	39(23)	43(23)	27(23)
26	Linalool	*	1184	71(100)	41(75)	43(75)	93(69)	55(61)	69(50)	80(31)	39(31)
		**	1088	71(100)	43(89)	41(87)	93(76)	55(73)	69(49)	80(35)	67(26)
40	α -Terpineol	*	1205	59(100)	93(70)	121(46)	81(42)	43(36)	136(36)	67(28)	92(25)
		**	1177	59(100)	93(59)	121(36)	81(36)	43(33)	136(30)	68(22)	92(21)
41	n-Decanal	*	1215	41(100)	57(88)	43(77)	55(69)	70(49)	82(43)	71(41)	44(41)
		**	1185	57(100)	43(95)	41(77)	55(65)	44(56)	70(55)	82(52)	71(50)
47	Neral	*	1262	41(100)	69(94)	39(44)	67(31)	94(26)	82(24)	81(24)	84(23)
		**	1219	41(100)	69(83)	39(22)	84(21)	94(16)	27(15)	29(14)	67(13)
48	Carvona	*	1270	82(100)	54(45)	39(33)	93(33)	108(25)	53(19)	41(19)	107(18)
		**	1220	82(100)	54(44)	39(34)	93(28)	108(28)	41(23)	107(18)	27(17)
52	Geranial	*	1293	69(100)	41(81)	39(34)	82(29)	84(24)	53(18)	67(17)	94(15)
		**	1247	41(100)	84(34)	94(24)	39(21)	109(15)	83(15)	27(13)	67(13)
75	Valenceno	*	1520	91(100)	79(96)	105(82)	93(81)	161(81)	107(71)	41(64)	119(60)
		**	1494	161(100)	41(76)	93(68)	79(64)	105(64)	91(60)	107(60)	119(48)

IK = índice de Kovats

* = IK e Ions majoritários obtidos neste estudo

** = IK e Ions majoritários obtidos na literatura

(Sugisawa *et al.*, 1989; Eight peak index, 1970)

A = A literatura não apresentou o IK para o referido composto

Na tabela 12 são apresentados os dados referentes aos compostos considerados tentativamente identificados, ou seja, utilizou-se apenas a comparação dos íons majoritários provenientes da espectrometria de massas e o "índice de Kovats" com os da literatura. Para uma confirmação da identidade destes compostos, seria necessário a utilização de padrões puros, que não se encontravam disponíveis.

As tabelas 13 e 14 mostram o peso molecular e as fórmulas estruturais dos compostos identificados.

De acordo com algumas literaturas consultadas, o composto nootkatone já foi identificado no óleo essencial e nas essências aquosa e oleosa (tabela 4, pag 20). Utilizando-se padrão puro de nootkatone constatou-se a ausência deste composto no óleo d-limoneno.

A revisão da literatura também havia mostrado um estudo apresentando a identificação dos compostos do óleo d-limoneno, realizado por Coleman e Shaw (1974), que utilizaram coluna empacotada e identificaram apenas 6 compostos, presentes em concentrações maiores que 0.1% (α -pineno, mirceno, d-limoneno, octanal, nonanal e linalool). Neste trabalho, utilizando-se cromatografia gasosa de alta resolução, foram identificados positivamente 8 compostos ainda não relatados pela literatura como presentes no óleo d-limoneno (β -pineno, γ -terpineno, α -terpineol, n-decanal, neral, carvona, geranial e valenceno) e

**Tabela 12 - IONS MAJORITÁRIOS PROVENIENTES DA FRAGMENTAÇÃO DE
ALGUNS COMPOSTOS VOLÁTEIS TENTATIVAMENTE
IDENTIFICADOS NO ÓLEO D-LIMONENO.**

PICO COMPOSTO IK			M/Z(Abundância Relativa)								
05	Cis-3-hexen-1-ol	*	1114	67(100)	41(89)	39(44)	82(39)	55(37)	69(29)	56(25)	42(24)
		**	836	41(100)	67(57)	82(38)	55(38)	39(31)	27(31)	31(28)	42(26)
06	1-Hexanol	*	1118	56(100)	55(60)	41(52)	43(46)	69(38)	42(32)	31(27)	39(23)
		**	848	56(100)	43(83)	41(59)	55(57)	42(53)	31(52)	27(50)	29(46)
07	α -Thujeno	*	1139	93(100)	92(56)	91(47)	77(32)	79(32)	67(29)	39(27)	41(26)
		**	A	93(100)	77(36)	91(35)	92(31)	27(19)	41(18)	39(18)	79(12)
08	α -Pineno	*	1142	93(100)	91(49)	92(43)	77(38)	79(31)	39(24)	41(22)	53(12)
		**	936	93(100)	92(33)	91(30)	77(27)	41(23)	79(23)	39(20)	27(15)
12	Sabineno	*	1154	93(100)	91(51)	77(46)	79(33)	41(25)	39(19)	92(14)	94(14)
		**	968	93(100)	77(24)	91(19)	79(17)	41(15)	136(11)	94(10)	69(09)
17	3-Careno	*	1164	93(100)	41(73)	69(53)	91(40)	39(36)	77(31)	79(29)	92(23)
		**	1007	93(100)	41(37)	39(30)	77(29)	91(29)	79(27)	27(25)	92(23)
22	Octanol	*	1178	56(100)	55(96)	41(91)	69(70)	70(61)	43(58)	42(45)	84(43)
		**	1054	56(100)	55(82)	41(69)	70(67)	43(66)	69(63)	84(55)	42(51)
25	Terpinoleno	*	1182	93(100)	121(71)	91(63)	136(50)	79(50)	77(44)	39(28)	41(26)
		**	1081	93(100)	121(98)	136(74)	39(50)	41(43)	79(42)	91(41)	27(38)
34	Citronelal	*	1194	41(100)	69(97)	95(53)	55(49)	39(37)	67(34)	56(28)	29(21)
		**	1137	41(100)	69(64)	55(41)	95(30)	43(25)	56(24)	67(23)	29(22)
37	1-Nonanol	*	1196	55(100)	56(94)	41(93)	70(76)	69(76)	43(60)	39(40)	83(38)
		**	1155	56(100)	55(84)	70(75)	43(72)	41(67)	69(63)	83(40)	57(38)
39	4-Terpineol	*	1199	71(100)	93(74)	41(57)	43(56)	69(47)	55(45)	91(42)	111(41)
		**	1169	71(100)	93(46)	111(43)	43(43)	86(22)	69(20)	55(20)	68(12)
42	Acetato de Octila	*	1224	43(100)	41(41)	55(40)	56(39)	70(37)	29(36)	69(31)	61(26)
		**	1193	43(100)	41(28)	56(24)	70(22)	55(22)	29(21)	42(18)	61(18)
46	Citronellol	*	1253	69(100)	41(93)	67(60)	55(57)	81(44)	39(40)	84(38)	82(36)
		**	1209	41(100)	69(69)	55(41)	67(38)	81(32)	82(29)	68(22)	43(22)
49	Geraniol	*	1274	69(100)	41(67)	67(27)	68(26)	39(24)	93(21)	53(17)	55(14)
		**	1234	69(100)	41(99)	68(24)	28(23)	67(21)	93(18)	55(17)	39(17)
53	Perilaldeido	*	1303	68(100)	67(97)	79(97)	77(61)	39(60)	41(51)	107(51)	53(50)
		**	1250	68(100)	79(59)	67(52)	39(49)	41(44)	53(42)	27(35)	107(33)

57	Undecanal	*	1340	41(100)	57(74)	43(67)	55(65)	82(47)	69(45)	56(43)	29(41)
		**	1288	43(100)	57(91)	41(75)	55(69)	82(57)	56(49)	44(49)	29(47)
59	Acetato de Terpenila	*	1376	93(100)	121(83)	43(60)	67(44)	81(37)	136(36)	79(36)	68(35)
		**	1333	43(100)	121(91)	93(86)	136(82)	28(40)	41(31)	79(23)	67(22)
62	α -Cubebeno	*	1393	105(100)	119(91)	91(60)	161(60)	93(54)	41(36)	77(32)	81(28)
		**	A	105(100)	161(99)	119(95)	91(37)	120(31)	41(31)	92(31)	81(29)
63	β -Cubebeno	*	1405	161(100)	91(68)	105(67)	119(37)	41(36)	79(36)	77(36)	81(30)
		**	A	161(100)	105(37)	91(31)	120(26)	41(24)	119(21)	81(18)	55(16)
83	β -Sinensal	*	1714	93(100)	55(68)	41(61)	27(56)	81(38)	94(33)	133(32)	77(30)
		**	1671	93(100)	55(55)	41(43)	81(23)	79(22)	67(21)	133(20)	91(17)

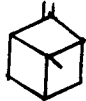
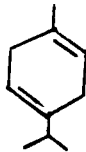
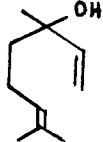
IK = índice de Kovats

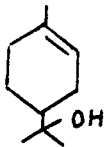
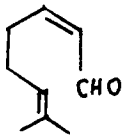
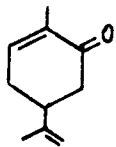
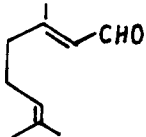
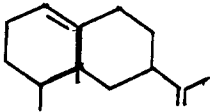
* = IK e Ions majoritários obtidos neste estudo

** = IK e Ions majoritários obtidos na literatura
(Sugisawa *et al.*, 1989; Eight peak index, 1970)

A = A literatura não apresentou o IK para o referido composto

Tabela 13 - FÓRMULAS ESTRUTURA DOS COMPOSTOS POSITIVAMENTE IDENTIFICADOS.

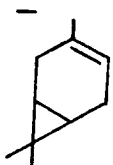
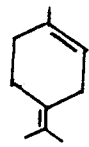
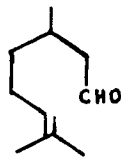
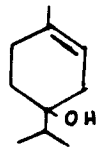
NOME COMUM (IUPAC)	NOME SISTEMÁTICO	PESO MOLECULAR	ESTRUTURA
β -Pineno	6,6-Dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano	136	
Mirceno	7-Metil-3-metileno-1,6-octadieno	136	
Octanal	n-Octaldeido	128	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CHO}$
Limoneno	1-Metil-4-(1-metil-etenil)-ciclohexano	136	
γ -Terpineno	1-Metil-4-(1-metiletil)-1,4-ciclohexadieno	136	
Linalool	3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol	154	

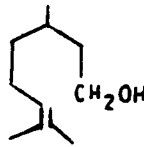
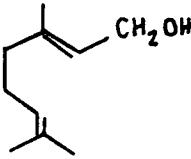
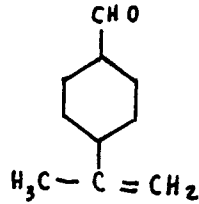
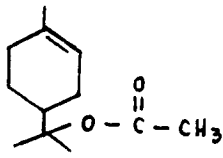
α -Terpineol	$\alpha, \alpha, 4$ -Trimetil-3-ciclohexeno-1-metanol	154	
n-Decanal	n-Decilaldeido	156	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8 \text{CHO}$
Neral	(Z)-3,7-Dimetil-2,6-octadienal	152	
Carvona	2-Metil-5-(1-metiletenil)-2-ciclohexen-1-ona	150	
Geranial	(E)-3,7-Dimetil-2,6-octadienal	152	
Valenceno		204	

Fontes: - Swigar & Silverstein, 1981
 - Bauer & Garbe, 1985
 - Furia & Bellanca, 1971

Tabela 14 - FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS.

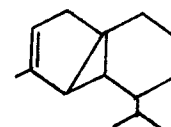
NOME COMUM	NOME SISTEMÁTICO (IUPAC)	PESO MOLECULAR	ESTRUTURA
cis-3-Hexen-1-OL	Cis-3-hexenol	100	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
1-Hexanol	Álcool Hexílico	102	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{OH}$
α -Thujeno	2-Metil-5-(1-metiletil)- biciclo[3.1.0]hex-2-eno	136	
α -Pineno	2,6,6-Trimetilbiciclo- [3.1.1]hept-2-eno	136	
Sabineno	4-Metileno-1-(1-metiletil)- biciclo[3.1.0]hexano	136	

3-Careno	-----	136	
1-Octanol	Álcool Octílico	130	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_6 \text{CH}_2\text{OH}$
Terpinoleno	1-Metil-4-(1-metiletil- ideno)ciclohexano	136	
Citronelal	3,7-Dimetil-6-octenal	154	
1-Nonanol	Álcool Nonílico	144	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_7 \text{CH}_2\text{OH}$
4-Terpineol	4-Metil-1-(1-metiletil)- 3-ciclohexen-1-ol	154	

Acetato de Octila	Acetato Caprílico	172	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$
Citronelol	3,7-Dimetil-6-octen-1-ol	156	
Geraniol	(E)-3,7-Dimetil-2,6-octadien-1-ol	154	
Perilaldeido	-----	152	
Undecanal	Álcool Undecílico	170	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CHO}$
Acetato de Terpenila	-----	196	

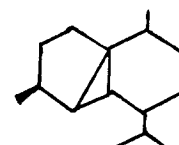
α -Cubebeno

204



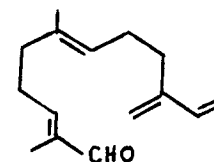
β -Cubebeno

204



β -Sinensal

204



Fontes: - Swigar & Silverstein, 1981
- Bauer & Garbe, 1985
- Furia & Bellanca, 1971
- Moshonas e Shaw, 1985

observada a ausência do composto nootkatone. Foram ainda confirmadas a presença de 4 compostos já relatados por Coleman e Shaw (1974) e identificados tentativamente mais 20 compostos.

A tabela 15 mostra a porcentagem relativa dos compostos do óleo d-limoneno (positiva e tentativamente identificados).

4.2 - Avaliação Sensorial

4.2.1 - Qualidade de aroma

Com o intuito de se avaliar sensorialmente as amostras do óleo d-limoneno coletadas para a análise cromatográfica, foram registradas as médias das notas sensoriais, obtidas em teste de qualidade, rotineiramente efetuado na unidade produtora "A", sendo os provadores familiarizados com escala de 7 pontos para a avaliação do odor do referido produto, diariamente.

A tabela 16 apresenta os resultados obtidos no teste de qualidade entre as amostras de óleo d-limoneno "A" e "B". Para o óleo da unidade "A", a média das notas foi de 4,5, tanto em 1991 como em 1994, enquanto para a unidade "B" a média foi de 6,3 em 1991 e 6,0 em 1994.

Tabela 15- PORCENTAGENS RELATIVAS DOS COMPOSTOS POSITIVA E
TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NO ÓLEO D-LIMONENO.

COMPOSTO	% RELATIVA	
	(AMPLITUDE)	
cis-3-Hexen-1-ol	0,003	0,008
1-Hexanol	0,004	0,008
α -Pineno	0,001	0,005
α -Thujeno	0,428	0,598
Sabineno	0,197	0,429
β -Pineno	0,016	0,027
Mirceno	1,769	1,963
n-Octanal	0,013	0,398
3-Careno	0,090	0,102
Limoneno	94,224	95,104
γ -Terpineno	0,003	0,061
1-Octanol	0,035	0,435
Terpinoleno	0,022	0,039
Linalool	0,516	0,812
Citronelal	0,003	0,063
1-Nonanol	0,010	0,043
4-terpineol	0,006	0,019
α -Terpineol	0,073	0,139
n-Decanal	0,125	0,323
Acetato de Octila	0,004	0,008

Citronelol	tr	0,010
Neral	0,035	0,070
Carvona	0,008	0,031
Geraniol	0,013	0,047
Geranial	0,067	0,133
Perilaldeído	0,019	0,031
Undecanal	tr	0,005
Acetato de Terpenila	0,002	0,006
α -Cubebeno	0,013	0,023
β -Cubebeno	0,014	0,020
Valenceno	0,058	0,107
β -Sinensal	0,007	0,022

Amplitude = % relativas, máxima e mínima, obtidas nos 78 cromatogramas da unidade produtora "B".

tr = traço (% relativa menor que 0,001)

**Tabela 16 - MÉDIAS SENSORIAIS OBTIDAS PARA AS AMOSTRAS DE ÓLEO
D-LIMONENO "A" E "B" NO TESTE DE QUALIDADE**

(*) Nº DA AMOSTRA	SAFRA 1991		SAFRA 1994	
	ÓLEO "A" MÉDIA	ÓLEO "B" MÉDIA	ÓLEO "A" MÉDIA	ÓLEO "B" MÉDIA
01	4,08	6,31	5,10	6,70
02	4,25	6,29	4,30	6,00
03	4,28	6,10	5,70	6,60
04	4,00	5,83	4,70	6,00
05	3,91	6,58	4,40	6,30
06	5,00	6,00	5,80	6,50
07	4,75	6,62	3,80	6,70
08	4,10	5,75	3,90	6,00
09	4,66	6,28	4,50	6,20
10	4,58	6,83	4,00	6,20
11	4,70	6,58	4,70	6,30
12	4,62	5,25	4,30	6,20
13	5,00	5,90	4,00	6,30
14	5,00	6,62	4,30	6,20
15	4,25	6,50	4,50	6,00
16	4,30	6,50	5,20	5,00
17	4,66	6,58	5,00	5,50
18	4,87	6,70	4,00	6,10
19	4,35	6,40	5,00	5,00
20	4,58	6,18	4,00	6,60
21	4,50	6,75	4,00	5,40
22	4,43	6,10	4,20	5,60
23	4,00	6,50	4,00	6,20
24	4,50	5,75	4,00	5,00
25	4,06	6,00	5,00	6,00
26	----	----	4,80	5,60
27	----	----	4,50	5,50
28	----	----	4,80	5,00

* = amostragem realizada em diferentes dias de produção.

MÉDIA = média das notas sensoriais de 6 provadores.

ÓLEO "A" = óleo d-limoneno da unidade produtora "A".

ÓLEO "B" = óleo d-limoneno de unidade produtora "B"

A análise dos dados do teste de qualidade, por análise de variância (ANOVA), mostrou que as amostras diferem significativamente a um nível de 1%, em ambos os anos estudados. Uma comparação gráfica entre as médias sensoriais das amostras "A" e "B" é mostrada nas figuras 4 e 5, ano de 1991 e 1994 respectivamente, utilizando-se os dados da tabela 16, onde observa-se claramente a qualidade inferior de odor do óleo d-limoneno proveniente da unidade produtora "A", tanto em 1991 como em 1994.

4.2.2-Resultados do "sniffing" (GC-olfatometria)

Na tabela 17 encontram-se os resultados da avaliação do aroma dos compostos individuais do óleo d-limoneno, que apresentaram reação por parte dos provadores pela técnica de "sniffing" (GC-olfatometria). Os compostos não apresentados na referida tabela não provocaram reação por parte dos provadores. Apesar da equipe não ter sido treinada, houve coerência na descrição do aroma para vários picos, embora os provadores usassem palavras diferentes.

O pico 18, identificado como d-limoneno, foi descrito por 4 provadores com o termo "erva doce/ chá", seguido dos termos "menta/ hortelã", "casca de laranja/ cidreira". Aldrich (1991-1992) descreveu o composto d-limoneno com os termos "cítrico", "laranja", "limão" e "suave". Para o pico 12, tentativamente identificado como sabineno, os provadores apresentaram 3 vezes

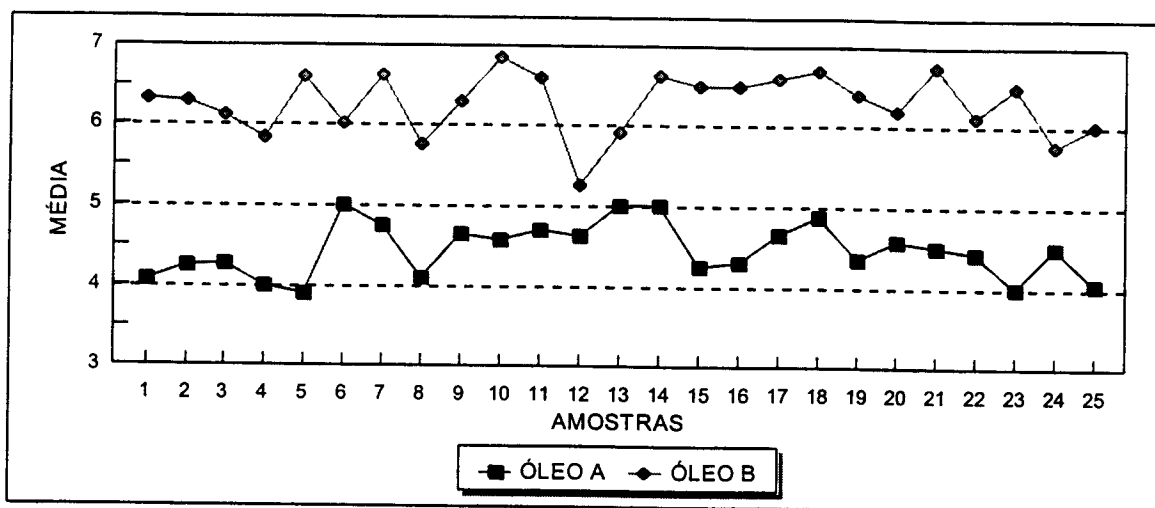


Figura 4 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DO ÓLEO D-LIMONENO "A" E "B", ANO 1991, (N= 6 PROVADORES).

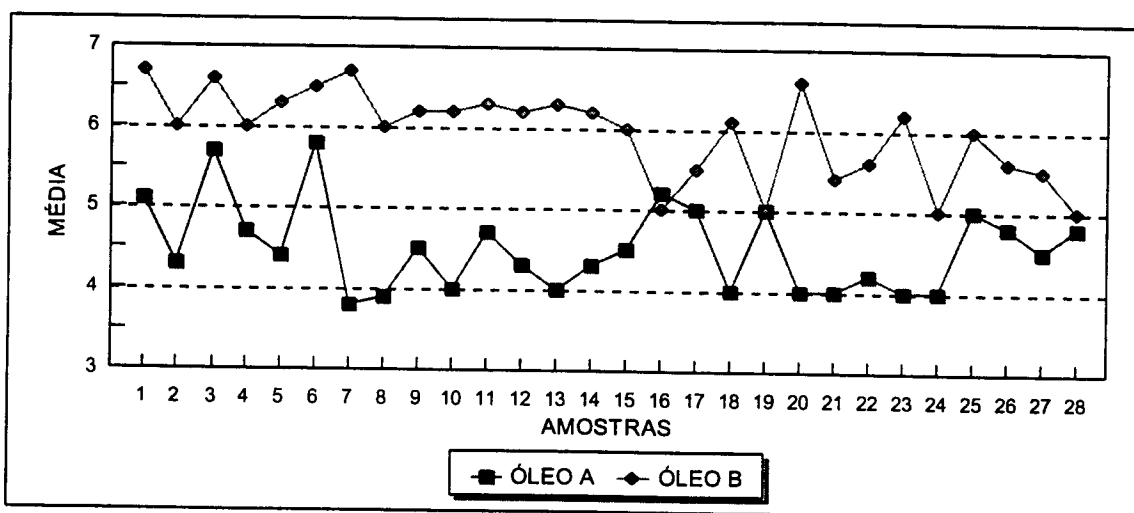


Figura 5 - MÉDIAS SENSORIAIS DO ÓLEO D-LIMONENO "A" E "B", ANO 1994, (N= 6 PROVADORES).

**Tabela 17 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DOS PICOS INDIVIDUAIS DO
ÓLEO D-LIMONENO "A", POR "sniffing"
(GC-olfatometria).**

PICOS	COMPOSTOS	DESCRIÇÃO DO AROMA
05	cis-3-Hexen-1-ol	floral (1)
08	α -Pineno	pinho (3), folha verde/ bom (2), amargo/ adstringente (1)
09	NI	laranja (1)
12	Sabineno	mato/ folha (3), leite de manga(1), mamão verde (1), gerânio (1)
14	Mirceno	laranja verde (1)
17	3-Careno	eucalipto (1), mato (1), verde (1), ardido ruim (1), gerânio (1)
18	Limoneno	erva doce/ chá (4), cidreira/ casca de laranja (1), menta/ hortelã (1)
21	γ -Terpineno	pinho (1)
25	Terpinoleno	casca de laranja (1), flôr (1)
26	Linalool	perfume floral (2), verde (1), casca de laranja (1), flôr (1), mamão papaya (1)
28	NI	limão (1), bom (1)
33	NI	verde (1)
34	Citronelal	eucalipto(3), limão(1),sauna (1), pinho (1)

37	1-Nonanol	flôr (2), crisântemo (1), margarida (1)
39	4-Terpineol	cítrico (1)
40	α -Terpineol	mato/ capim (2), adstringente (1), laranja (1), açúcar queimado (1)
41	n-Decanal	folha (2), bom (2), ardido ruim (1)
46	Citronelol	menta forte (1), ardido (1)
47	Neral	pinho (1), floral(1), cítrico(1), fruta(1)
52	Geranial	casca de limão (1), cítrico (1), limão (1), aniz (1), cidreira (1)
53	Perilaldeido	ranço (3), óleo queimado(2), óleo estragado/ desagradável (1)
54	NI	dentista (2),ardido (2), remédio (1)
55	NI	ranço (3), desagradável (1), plástico (1)
63	β -Cubebeno	menta (3), ardido (2)
72	NI	borracha (2), queimado leve (1)
75	Valenceno	metálico (1)
78	NI	ruim (1), leve ranço (1)
79	NI	ardido (1), folha (1), verde(1)
80	NI	folha queimada (1), doce (1), agradável (1)
83	β -Sinensal	cítrico (2), eucalipto (1)

Obs.: Resultados de 6 avaliações; Os números entre parênteses indicam o número de vezes que a descrição foi empregada pelos provadores.

a descrição "mato/ folha" e as descrições "leite de manga", "mamão verde" e "gerânio". Bauer e Garbe (1985) descreveram o aroma deste composto como "terebentina". O composto tentativamente identificado como periladeido, pico 53, recebeu os termos "ranço", "óleo queimado", e "óleo estragado/ desagradável". Aldrich (1991-1992) descreveu o referido composto com os termos "verde", "oleoso" e "cereja". A descrição "pinho" apresentada por 3 provadores para o composto tentativamente identificado como α -pineno, é a mesma utilizada por Furia e Bellanca (1971). O composto tentativamente identificado como citronelal recebeu os termos "eucalipto", "limão", "sauna" e "pinho", que são coerentes com as descrições de Bauer e Garbe (1985) e Furia e Bellanca (1971), "odor refrescante" e "limão intenso", respectivamente. Para o composto n-decanal os termos utilizados pelos provadores foram "folha", "bom", "ardido ruim", sendo este composto descrito na literatura como "odor forte" mudando para odor "cítrico fresco quando diluído" (Bauer e Garbe, 1985), "odor gorduroso desenvolvendo característica floral quando diluído" (Furia e Bellanca, 1971) e "penetrante", "floral" e "cítrico" (Aldrich, 1991-1992). As descrições de aroma "casca de limão", "cítrico" e "limão" apresentadas para o composto geranial, estão perfeitamente de acordo com a descrição "forte odor de limão", apresentada por Furia e Bellanca (1971). Uma das descrições dos provadores que mais concordaram com as encontradas na literatura foi a do composto linalool, pico 26, que recebeu os termos "perfume floral", "casca de laranja", "verde", "mamão papaya" e "flôr". Bauer e Garbe (1985) atribuiu ao linalool os termos "odor floral fresco" e "recordativo a vale" e Aldrich (1991-

1992) o descreveu como "floral", "cítrico", "limão", "laranja" e "refrescante".

Os resultados obtidos mostraram não haver um único composto apresentando odor ruim, que não estivesse presente em ambos os óleos e que pudesse, portanto, ser o responsável pela má qualidade de odor do óleo d-limoneno da unidade produtora "A". Este fato foi confirmado pelo "sniffing" (GC-olfatometria) do óleo d-limoneno da unidade produtora "B". Assim, acredita-se que a qualidade inferior de odor do produto, esteja relacionada com um desbalanceamento na concentração dos componentes voláteis do referido óleo e não com a presença de um composto a quem pudesse ser atribuído "off-aroma". Compostos com "off-aroma" são poderosos odoríferos e se presentes, mesmo em quantidade traço, seriam facilmente percebidos pelos provadores durante a realização da técnica de "sniffing" (GC-olfatometria), (Whitfield e Shaw, 1984).

4.3 - Composição de Voláteis e Qualidade de Aroma

Esperava-se encontrar diferenças na composição de voláteis dos óleos d-limoneno, às quais pudessem ser atribuídas os aromas distintos dos dois produtos. Porém, a cromatografia gasosa de alta resolução não evidenciou nenhuma diferença entre os perfis cromatográficos obtidos. Por outro lado, a técnica de

"sniffing" (GC-olfatometria) não confirmou a suposição de que um ou mais compostos pudessem estar presentes, em quantidades traços, causando "off-aroma" no óleo d-limoneno de qualidade inferior.

A lógica pressupõe que deva ocorrer diferenças na composição de voláteis. A diferença entre os aromas dos dois óleos d-limoneno, deveria então surgir de um desbalanceamento na composição de voláteis do óleo de qualidade inferior. Alguns autores já haviam ressaltado anteriormente a importância de uma proporção específica entre os vários componentes para se criar o sabor único de citros (Shaw, 1979; Moshonas e Shaw, 1984 e 1986).

Para verificar a hipótese acima, a técnica estatística multivariada de Análise Fatorial foi aplicada às porcentagens relativas dos componentes do óleo d-limoneno das unidades "A" e "B".

A matriz obtida, $[n \times p]$, onde n = número de amostras e p = número de variáveis, respectivamente em linhas e colunas, seria de 156×84 , ou seja, 13.104 dados. Alguns valores faltaram na matriz de dados, já que picos com áreas perto do limite de integração, apareceram apenas como traços em alguns cromatogramas. Tais compostos foram eliminados da matriz de dados e correspondem aos picos 3, 4, 10, 11, 20, 23, 24, 31, 38, 43, 45, 46, 50, 51, 57, 60, 68, 78, 81 e 82.

A análise estatística univariada (teste t) mostrou que, dentre essas variáveis, os picos numerados como 4, 11, 20, 31,

43 e 82 não diferiam significativamente ($p \leq 0.05$) entre os óleos "A" e "B", quando comparadas individualmente, podendo portanto ser eliminados sem perda considerável de informações da matriz de dados (Tabela 18).

Os compostos numerados como 3, 10, 45, 50, 60, 78 e 81 diferiram significativamente ($p \leq 0.05$), porém, os resultados do "sniffing" (GC-olfatometria) mostraram que tais compostos não contribuíam ao aroma das amostras, com exceção do composto n°78, que foi descrito como possuindo aroma desagradável, de ranço. Apesar de não incluído na matriz de dados da análise multivariada, este composto não pode ser desprezado e merece atenção especial, já que possui aroma com conotação de desagradável e foi detectado 69 vezes no óleo com aroma inferior, enquanto apenas 30 vezes no de melhor qualidade.

Os compostos numerados como 23, 24, 38, 46, 51, 57 e 68 foram detectados, esporadicamente, em apenas algumas amostras. Estes compostos provavelmente ocorrem em uma concentração menor do que o "threshold", pois não foram percebidos pelos provadores.

As amostras, em duplicata, do ano de 1991, foram consideradas como observações independentes na análise estatística multivariada. Assim, o número de amostras (n), igual a 156 nos dois anos e o número de variáveis (p), igual a 64, mostram uma relação $n > p$, como necessário para a aplicação da Análise Fatorial. Esta, realizada após uma transformação logarítmica das porcentagens relativas dos 64 componentes,

Tabela 18 - RESULTADOS DO TESTE "T"

Var	Unidade "A"		Unidade "B"		Valor t	Sig.
	N	Média	N	Média		
03	73	2,8703	19	3,1648	1,00	S
04	48	2,9348	36	2,9881	3,60	NS
10	34	2,9364	60	3,0461	1,41	S
11	51	2,8588	75	2,8213	3,12	NS
20	52	2,2725	49	2,2799	1,67	NS
31	72	2,7901	43	2,8151	2,80	NS
43	67	2,0979	68	2,1102	1,12	NS
45	66	1,6639	71	1,6046	1,24	S
50	76	2,4065	67	2,3308	1,19	S
60	47	2,7653	44	2,6974	2,11	S
78	69	2,7384	30	2,8538	2,49	S
81	41	2,8049	36	3,1452	2,09	S
82	28	2,4867	33	3,0581	8,52	NS

Var = variável (pico)

Sig. = significância a nível de 0,05%

N = número de vezes que a variável foi detectada

Média = média dos logaritmos das porcentagens relativas

apresentou fatores maiores do que 4,7% até o 6º fator, inclusive, alcançando uma proporção acumulativa de 73%. Isto quer dizer que os 64 picos das amostras podem ser explicados pelos 6 fatores, com perda de 27% da variabilidade dos dados.

As amostras foram colocadas em um gráfico, na base do primeiro e segundo fatores, como mostra a figura 6a. Os fatores 1 e 2 explicaram 42% da variabilidade entre as amostras.

As amostras deslocaram-se no 1º fator na sequência b, c, d, e, f, g, h, isto é, de acordo com as categorias de qualidade de aroma (tabela 8, pag 48) da direção positiva à negativa do eixo 1º fator, sugerindo que o 1º fator indicava a qualidade de aroma das amostras. Uma certa inversão na sequência de letras era esperada, pois as distintas categorias não possuíam um limite de notas muito diferente entre elas. Exemplificando, uma amostra que recebeu nota 5,9 foi classificada como categoria "d" e outra que recebeu nota 6,1, já pertence à categoria "e". A figura 6b foi reproduzida mostrando-se apenas a classificação de acordo com a qualidade de aroma, sem distinção entre as duas unidades produtoras, para melhor visualização do deslocamento das amostras.

Vinte e quatro compostos, que tinham carga fatorial (coeficientes de cada variável na combinação linear de variáveis que definem o fator) maior do que 0.5 ou menor que -0.5, foram extraídos do FATOR 1 (tabela 19). Estes compostos estão altamente correlacionados com a qualidade de aroma e tem

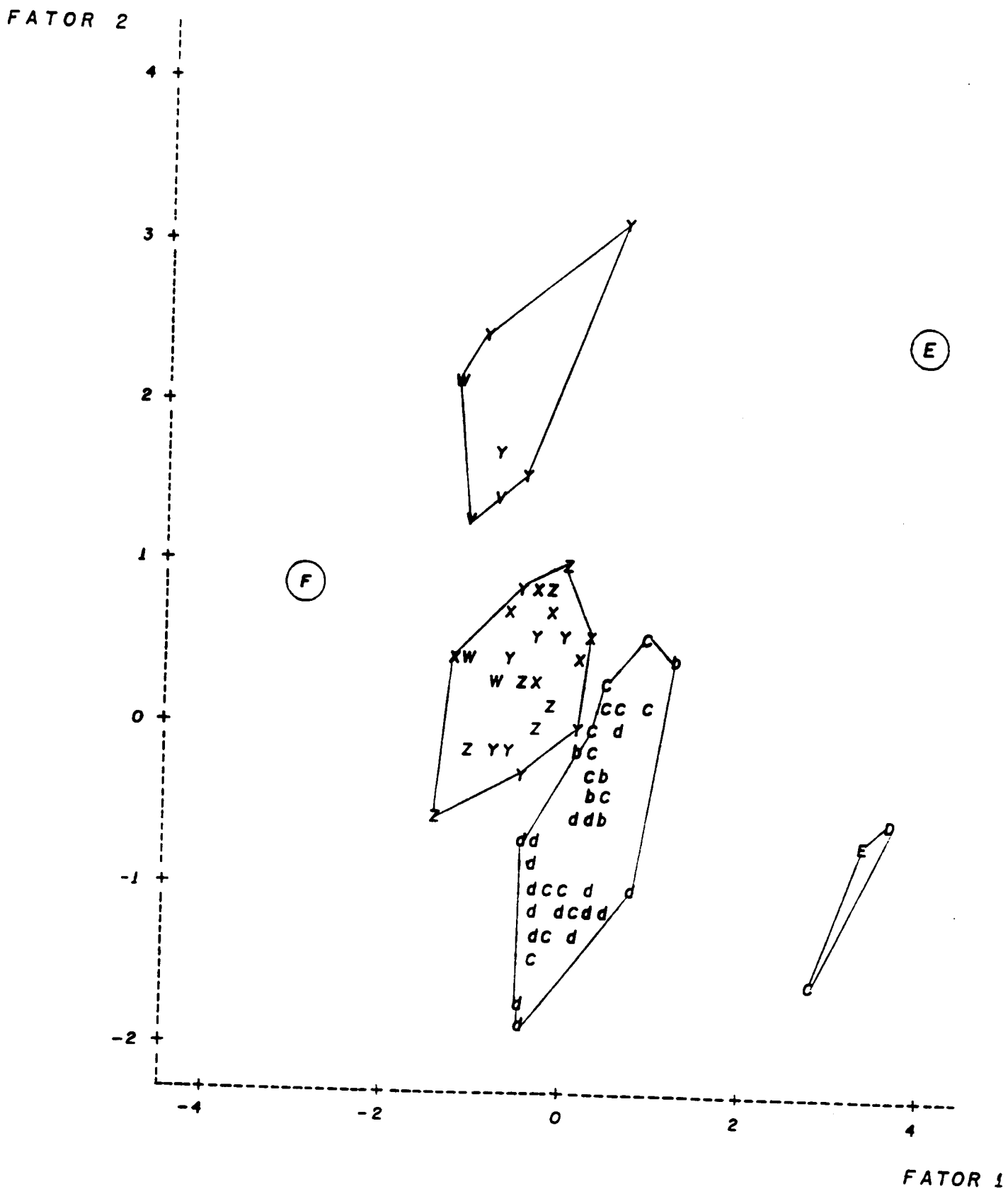


Figura 6a - FATOR 1 X FATOR 2

ORIGEM

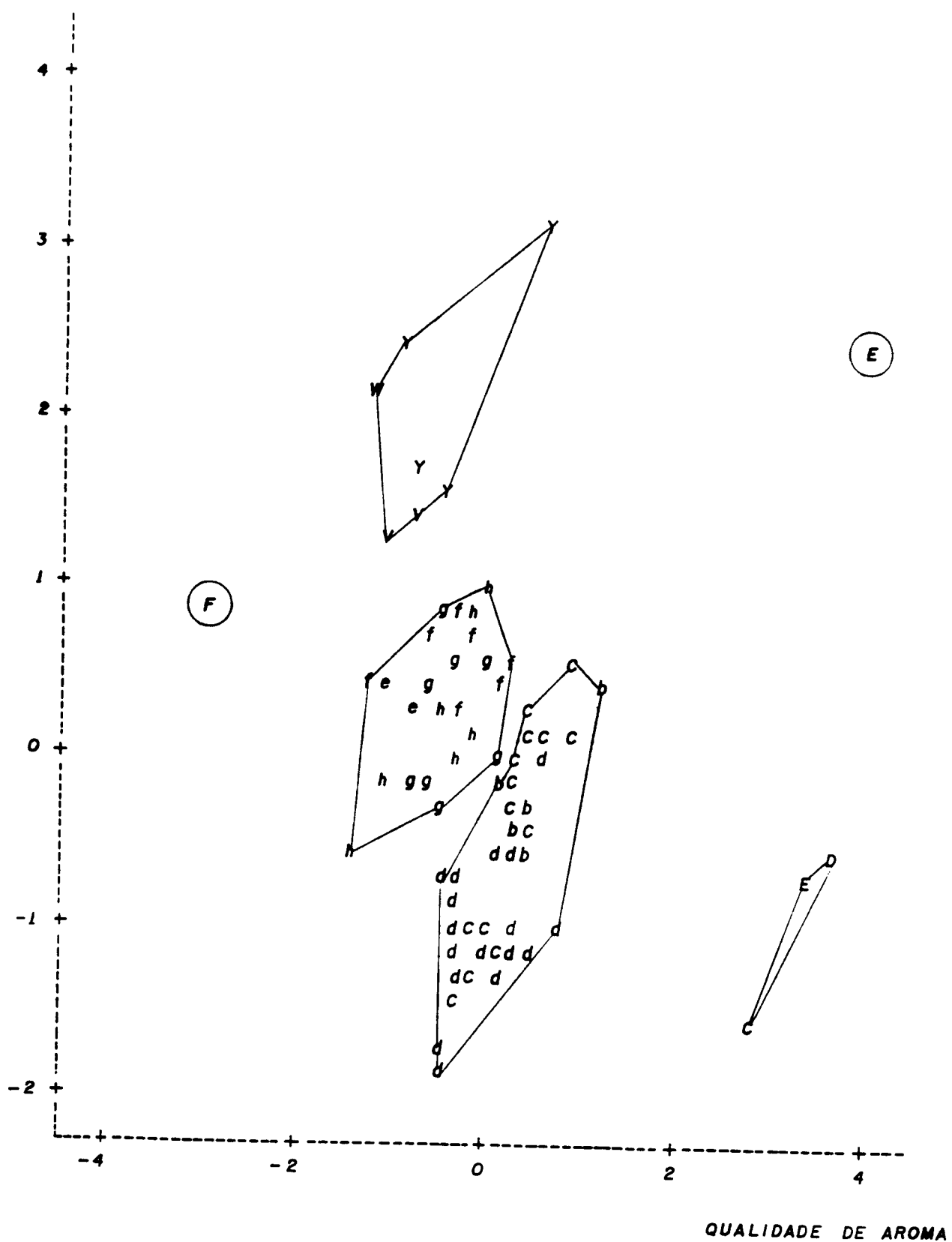


Figura 6b - QUALIDADE DE AROMA X ORIGEM

Tabela 19 - CARGA FATORIAL NÃO MENOR QUE $|\pm 0.5|$,
NO PRIMEIRO FATOR

PICO	COMPOSTO	FATOR 1	PICO	COMPOSTO	FATOR 1
26	Linalool	0.894	18	D-limoneno	-0.749
33	NI	0.870	63	β -Cubebeno (*)	-0.742
47	Neral	0.864	77	NI	-0.731
35	NI	0.778	74	NI	-0.622
22	1-Octanol (*)	0.751	62	α -Cubebeno (*)	-0.726
06	1-Hexanol (*)	0.718	71	NI	-0.587
05	cis-3-Hexen-1-ol (*)	0.710	65	NI	-0.581
32	NI	0.655	67	NI	-0.533
42	Acetato de		55	NI	-0.500
	octila (*)	0.635			
30	NI	0.618			
54	NI	0.575			
52	Geranial	0.527			
34	Citronelal (*)	0.506			
37	1-Nonanol (*)	0.500			
49	Geraniol (*)	0.500			

(*) = Compostos tentativamente identificados

contribuições opostas. Como as variáveis da matriz de dados eram porcentagens relativas, se os compostos com cargas positivas forem maiores, no óleo de melhor qualidade (unidade "B"), então os compostos com carga negativa terão porcentagens relativas menores nesta unidade, e vice-versa.

Compostos identificados com maior concentração no óleo de alta qualidade, foram linalool, neral, 1-octanol, 1-hexanol, cis-3-hexen-1ol, acetato de octila, geranial, citronelal, 1-nonanol e geraniol, nesta sequência. Predominantemente são compostos oxigenados, álcoois, aldeídos ou ésteres.

Os compostos neral, geranial e citronelal, foram relatados por Vora et al. (1983) como contribuintes para o sabor característico de laranja. Os resultados obtidos do "sniffing" (GC-olfatometria) descreveram estes compostos como apresentando aromas agradáveis. O composto linalool teve seu odor descrito como "perfume floral" e "casca de laranja", enquanto o composto neral recebeu os termos "pinho", "floral", "cítrico" e "fruta". O odor do composto cis-3-hexen-1-ol foi descrito como "floral" e o do composto geranial como "casca de limão", "cítrico". O composto citronelal foi descrito como "eucalipto" e "limão" e o composto 1-nonanol recebeu termos florais. Os compostos 1-octanol, 1-hexanol, acetato de octila e geraniol não foram percebidos pelos provadores do "sniffing" (GC-olfatometria), mas Furia e Bellanca (1971) descreveram o odor dos três primeiros como "flôr de laranja", "fruta" e "fruta, reminescente a jasmim", respectivamente. Os compostos 30 e 35, não identificados, não receberam descrição de odor no "sniffing" (GC-olfatometria). Os compostos 33 e 54, também não

identificados, receberam respectivamente os termos descritivos "verde" e "ardido, remédio".

Compostos com maior concentração no óleo de qualidade inferior foram os numerados como 18, 63, 74, 77, 62, 71, 65, 67 e 55, em sequência decrescente. Dentre eles, foram identificados d-limoneno, β -cubebeno e α -cubebeno. Predominantemente, são os compostos de maior ponto de ebulição, pois aparecem na parte final do cromatograma. α e β cubebenos são hidrocarbonetos sesquiterpênicos, de alto peso molecular (PM 204).

O composto α -cubebeno e os compostos 77, 74, 71, 65 e 67, não identificados, não foram percebidos pelos provadores do "sniffing" (GC-olfatometria). O composto d-limoneno recebeu como descrição de odor os termos "erva doce/ chá", "menta/ hortelã" dentre outros, enquanto o composto β -cubebeno foi descrito como "menta" e "ardido". O composto 55, não identificado, teve seu odor descrito pelos provadores do "sniffing" (GC-olfatometria) como "ranço", "desagradável" e "plástico".

Em resumo, a Análise Fatorial mostrou que o 1º FATOR estava altamente correlacionado com a qualidade de aroma e quais os componentes que não estavam presentes em proporções corretas, causando um desbalanceamento no aroma, portanto o 1º FATOR será chamado de "QUALIDADE DE AROMA".

No 2º FATOR as amostras se deslocaram, com alguma sobreposição, da direção positiva à negativa, da unidade

produtora "B" para a unidade produtora "A", sugerindo que este fator indicava a "ORIGEM DAS AMOSTRAS". Pelo termo origem, entenda-se o processamento ou a região geográfica, já que cada unidade produtora processou laranjas provenientes da própria região.

Os compostos extraídos do 2º FATOR, com carga fatorial maior do que 0.5 ou menor do que -0.5, foram colocados na tabela 20.

Os compostos identificados, com carga fatorial não menor que 0.5, foram: valenceno, β -sinensal, geraniol, sabineno, β -pineno e nonanol. Destes os provadores do "sniffing" (GC-olfatometria) perceberam os compostos valenceno (descrito como "metálico"), β -sinensal (descrito como "cítrico", "eucalipto"), sabineno (descrito como "mato", "folha"), e 1-nonanol (descrito como "flôr", "crisântemo" e "margarida"). O composto 72, não identificado, recebeu como descrição de odor os termos "borracha" e "queimado leve". Os compostos 70, 69, 66, 49, 84, 73, 61, e 71 não foram percebidos pelos provadores do "sniffing" (GC-olfatometria). Com exceção do composto 72, as atribuições de aromas percebidos tem conotação agradável.

Os compostos identificados com fator não menor que -0.5 foram: mirceno (descrito como "laranja verde"), n-octanal (segundo Furia e Bellanca (1971) apresenta odor a "fruta", "pungente" e "oleoso"), n-decanal (descrito como "folha", "bom" e "ardido ruim" dentre outros), α -pineno (descrito como "folha",

**Tabela 20 - CARGA FATORIAL NÃO MENOR QUE $|\pm 0.5|$,
NO SEGUNDO FATOR**

PICO	COMPOSTO	FATOR 2	PICO	COMPOSTO	FATOR 2
70	NI	0.871	14	Mirceno	-0.727
69	NI	0.840	15	n-Octanal	-0.721
75	Valenceno	0.764	41	n-Decanal	-0.672
83	β -Sinensal (*)	0.727	28	NI	-0.585
66	NI	0.714	02	NI	-0.581
49	Geraniol (*)	0.657	08	α -Pineno (*)	-0.546
72	NI	0.636	05	Cis-3-hexen-1-ol	-0.536
12	Sabineno	0.617	65	NI	-0.535
84	NI	0.601			
73	NI	0.600			
61	NI	0.590			
71	NI	0.584			
13	β -Pineno	0.578			
37	1-Nonanol (*)	0.571			

(*) = Compostos tentativamente identificados

"bom" e "adstringente"), cis-3-hexen-1-ol (descrito como "floral"). O composto 28, não identificado, recebeu as descrições de odor "limão" e "bom", enquanto os compostos 02, 65 e 71 não foram percebidos pelos provadores do "sniffing" (GC-olfatometria). Novamente, os compostos mencionados apresentam aromas agradáveis.

Observa-se que os compostos que poderiam estar causando as diferenças de aroma entre os dois óleos, devido a origem distintas das amostras, não são os mesmos que influenciam a qualidade de aroma, com exceção do geraniol, cis-3-hexen-1-ol e 1-nonanol, que também estão presentes em concentrações maiores na unidade "B" e os compostos não identificados numerados como 65 e 71, em concentração maior na unidade "A". O desbalanceamento destes compostos, afetando a qualidade de aroma, pode portanto, ser devido à própria origem das amostras.

A figura 6a apresentou as amostras plotadas de acordo com a qualidade de aroma (abcissa) versus a origem (ordenada). Observa-se que as amostras da unidade "B", com qualidade superior de aroma, deslocam-se mais à esquerda no gráfico, enquanto as da unidade "A", com qualidade de aroma inferior, deslocam-se mais para a direita. Duas amostras do ano de 1994, pertencendo às categorias "E" e "F", tiveram comportamento anômalo e podem ser consideradas como "outliers". Poderiam ser retiradas da matriz de dados e todo o procedimento estatístico repetido, o que talvez melhorasse a separação entre grupos nos gráficos, permitindo uma visualização melhor do comportamento das amostras. A figura 7 mostra que as amostras no FATOR 3 deslocaram-se no sentido positivo ao negativo, do ano de 1991

FATOR 3

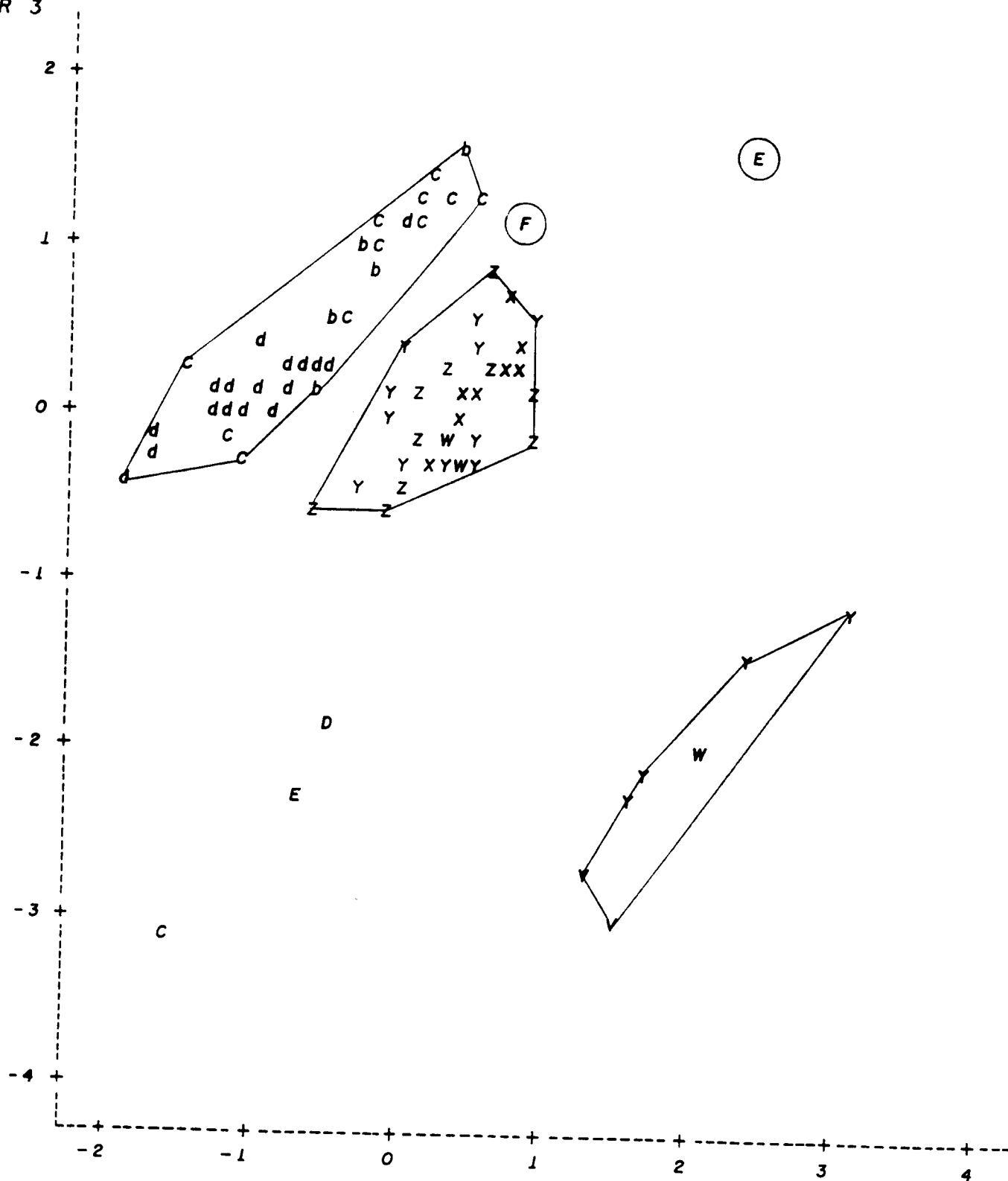


Figura 7 - FATOR 2 X FATOR 3

FATOR 2

para o de 1994, sugerindo que este fator indicava o "ANO". A tabela 21 apresenta os compostos com carga fatorial maiores do que 0.5 ou menores do que -0.5 no FATOR 3, altamente correlacionados com o ano.

Os compostos identificados que variaram nos dois anos foram: perilaldeído, acetato de octila, α -terpineol, n-decanal, α -pineno, β -pineno, α -thujeno e sabineno.

Dentre eles, apenas o acetato de octila afeta a qualidade de aroma, mostrando que o fator ano não influenciou a qualidade de aroma.

Finalmente, a figura 8 plota as amostras em relação à "QUALIDADE DE AROMA" versus "ANO" (FATOR 1 x FATOR 3). Observa-se que amostras provenientes da unidade "A" tem qualidade de aroma inferior, enquanto a unidade "B" possui qualidade de aroma superior (vide pag. 48, tabela 8), nos dois anos estudados, confirmando resultados anteriores.

Em resumo, a Análise Fatorial permitiu apontar quais compostos eram responsáveis pela diferente qualidade de aroma dos dois óleos. A análise estatística multivariada mostrou ainda quais compostos variaram de acordo com o ano (que indica a safra) e com a origem (que indica o próprio processamento ou então a região geográfica) e que estes fatores, ano e origem, praticamente não afetaram a qualidade de aroma dos óleos d-limoneno.

Tabela 21 - CARGA FATORIAL NÃO MENOR QUE $|\pm 0.5|$,
NO TERCEIRO FATOR

PICO	COMPOSTO	FATOR 3	PICO	COMPOSTO	FATOR 3
53	Perilaldeido(*)	0.670	41	n-Decanal	-0.637
64	NI	0.641	08	α -Pineno(*)	-0.531
42	Acetato de		13	β -Pineno	-0.500
	octila(*)	0.622	07	α -Thujeno(*)	-0.500
67	NI	0.576	12	Sabineno	-0.500
55	NI	0.571			
56	NI	0.513			
29	NI	0.510			
40	α -Terpineol	0.500			

(*) = compostos tentativamente identificados

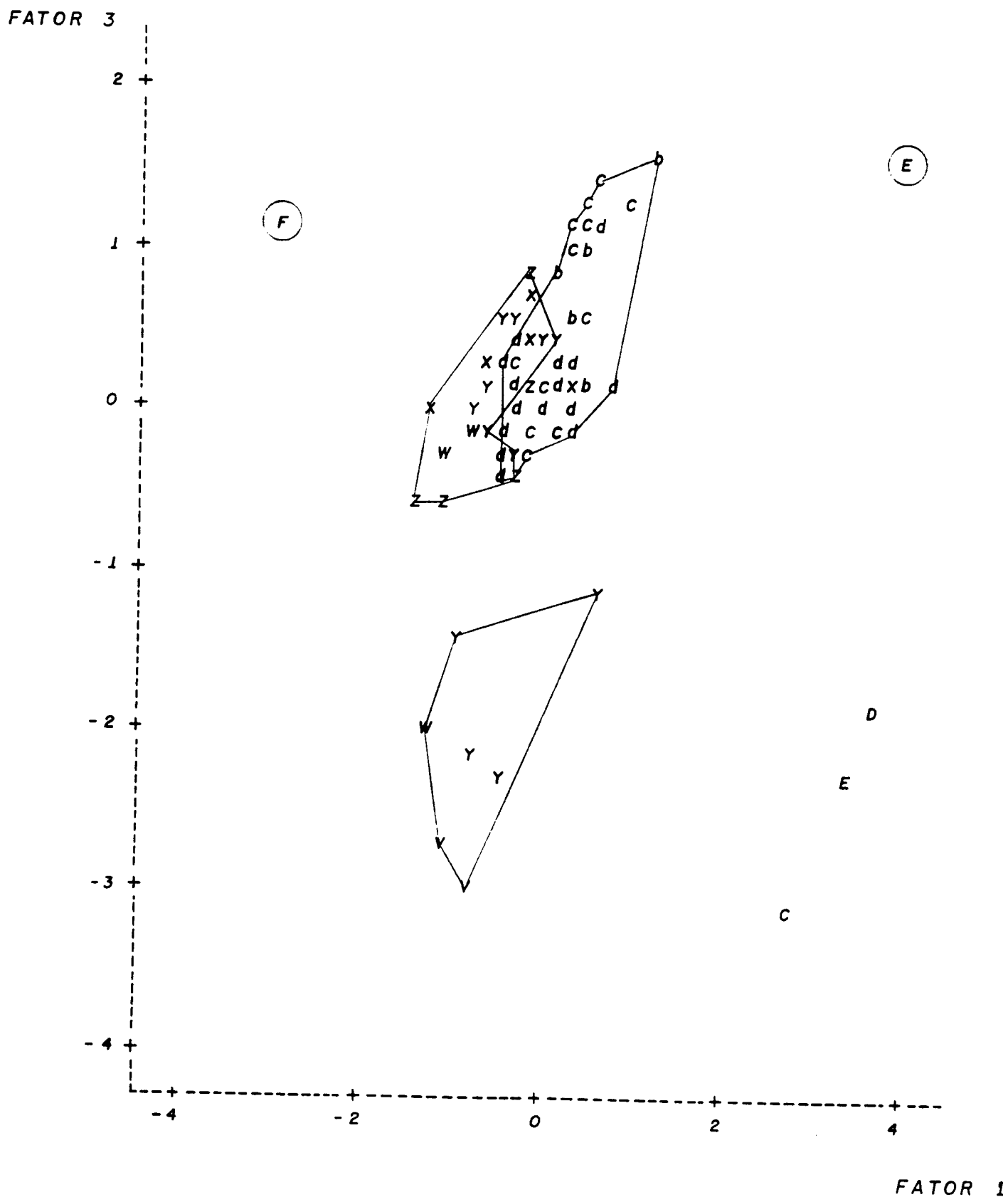


Figura 8 - FATOR 1 X FATOR 3

Por informação da indústria, sabe-se que, quando amostras provenientes da região geográfica "A" são processadas na unidade produtora "B" e vice-versa, a qualidade de aroma não é influenciada, ou seja, a unidade "A" continua produzindo óleo de qualidade inferior e a unidade "B", óleo de qualidade superior, indicando que o Fator 2, denominado origem, indica a região geográfica e não o processamento. A informação fornecida pela empresa mostra ainda que, provavelmente, a diferença de qualidade de aroma (FATOR 1) entre os dois óleos seja devido ao próprio processamento, devendo ser ressaltado que, embora o procedimento de produção seja igual nas duas fábricas, a unidade "A" é consideravelmente maior do que a unidade "B", produzindo 28 toneladas/dia contra 11 toneladas/ dia respectivamente.

5 - CONCLUSÕES

1. Foram identificados positivamente no óleo d-limoneno 8 compostos ainda não relatados pela literatura internacional: β -pineno, γ -terpineno, α -terpineol, n-decanal, neral, carvona, geranial e valenceno. Foi confirmada também a presença de 4 compostos (octanal, d-limoneno, linalool e mirceno) já relatados como constituintes do óleo d-limoneno e constatou-se a ausência do composto nootkatone.

2. O óleo d-limoneno foi separado em 84 compostos voláteis e dentre eles, 20 foram identificados por espectrometria de massas.

3. A análise sensorial confirmou a existência de diferenças na qualidade de aroma entre óleos d-limoneno produzidos nas duas unidades produtoras, e esta diferença permaneceu nos dois anos estudados.

4. Os resultados do "sniffing" (GC-olfatometria) e da cromatografia gasosa de alta resolução mostraram não haver um único composto que possa estar causando "off-aroma" nas amostras da unidade produtora "A"

5. A análise estatística multivariada (Análise Fatorial) indicou um desbalanceamento na composição de voláteis como responsável pela diferença na qualidade de aroma

entre os óleos d-limoneno das duas unidades produtoras estudadas.

6. Os compostos identificados como linalool, neral, 1-octanol, 1-hexanol, cis-3-hexen-1ol, acetato de octila, geranial, citronelal, 1-nonanol e geraniol, e os não identificados numerados como 33, 35, 32, 30 e 54, influenciam positivamente a qualidade de aroma do óleo d-limoneno.

7. Os compostos identificados como d-limoneno, β -cubebeno e α -cubebeno, e os não identificados numerados como 77, 74, 71, 65, 67 e 55, influenciam negativamente a qualidade de aroma do óleo d-limoneno.

8. O composto não identificado numerado como 78, presente em quantidades traços, apresentou odor ruim, desagradável e foi detectado 69 vezes na unidade "A", e apenas 30 vezes na unidade "B".

9. Os fatores denominados "Ano" e "Origem" não afetaram a qualidade de aroma

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AISHIMA, T. Application of multivariate analysis to silica capillary CG profiler to differentiate the aroma characteristics of worcentershire sauces. In: **The shelf life of foods and beverages**. Amsterdam, Elsevier, 1986. 822p.
2. ALDRICH CHEMICAL COMPANY. **Flavor & fragrances**. Milwaukee, 1991-1992. (catálogo).
3. BAUER, K. & GARBE, D. **Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses**. Weinhein, V.C.H., 1985. 213p.
4. BERRY, R. E. Recent developments in analytical techniques for citrus products. **Food Technology** 39(9): 91-94, 1985.
5. BERRY, R. E.; SHAW, P. E.; TATUM, J. H.; WILSON, C. W. III. Citrus oil flavor and composition studies. **Food Technology** 37(12): 88-91, 1983.
6. BLAIR, J. S.; GODAR, E. M.; MASTERS J. E.; RIESTER D.W. Exploratory experiments to identify chemical reactions causing flavor deterioration during storage of canned orange juice. I. Incompatibility of peel-oil constituents with the acid juice. **Food Research**

- 17(3): 235-260, 1952.
7. BLAIR, J. S.; GODAR, E. M.; REINKE, H. G.; MARSHALL, J. R.
The COF effect in frozen citrus products. **Food Technology** 11(2): 61-68, 1957.
 8. BRADDOCK, R. J. & KESTERSON, J. W. Quantitative analysis of aldehydes, esters, alcohols and acids from citrus oils. **J. Food Science** 41(5): 1007-1010, 1976.
 9. BRADDOCK, R. J.; TEMELLI, F.; CADWALLADER, K. R. Citrus essential oils: a dossier for material safety data sheets. **Food Technology** 40(11): 114-116, 1986.
 10. CLARK JR., B. C. & CHAMBLEE, T.S. Acid-catalyzed reactions of citrus oils and other terpene-containing flavors. In: CHARALAMBOUS, G. ed. **Off-Flavors in food and beverages**. Amsterdam, Elsevier, 1992. p.229-285
 11. COLEMAN, R. L.; LUND, E. D.; MOSHONAS, M. G. Composition of orange essence oil. **J. Food Science** 34(6): 610-611, 1969.
 12. COLEMAN, R. L. & SHAW, P. E. Potencial uses of distilled orange oils. **The Citrus Industry** 55(3): 20-21, 1974.
 13. COLEMAN, R.L. & SHAW, P. E. Analysis of valencia orange essence and aroma oils. **J. Agric. Food Chem.** 19(3): 520-523, 1971.

- 14.DUGO, G.; LAMONICA, G.; COTRONEO, A.; D'ALCONTRES, I. S.;
VERZERA, A.; DONATO, M.G.; DUGO, P.; LICANDRO, G. High
resolution gas chromatography for detection of
adulterations of citrus cold-pressed essential oils.
Perfumer and Flavorist 17(5): 57-74, 1992.
- 15.EIGHT PEAK INDEX OF MASS SPECTRA. Aldermaston, Mass
Spectrometry Data Centre - AWRE, 1970. v.1-2.
- 16.FURIA, T.E. & BELLANCA, N. ed. **Fenaroli's handbook of flavor
ingredients**. Cleveland, Chemical Rubber, 1971. 803p.
- 17.HARAYAMA,K.; HAYASE,F.; KATO,H. Evaluation by multivariate
analysis of off-flavor in headspace volatiles formed
during storage of beer. **Agric. Biol. Chem.** 55(2):
393-398, 1991.
- 18.HEADLEY, L.M. & HARDY, J.K. Classification of whiskies by
principal component analysis. **J. Food Science** 54(5):
1351-1358, 1989.
- 19.HUNTER,G.L.K. & BROGDEN, W. B. Analysis of the terpene
and sesquiterpene hydrocarbons in some citrus oils.
J. Food Science 30(3): 383-387, 1965a.
- 20.HUNTER,G.L.K. & BROGDEN JR,W.B. Terpenes and
sesquiterpenes in cold-pressed orange oil. **J. Food
Science** 30(1): 1-3, 1965b.

21. JOHNSON, J. D. & VORA, J. D. Natural citrus essences. **Food Technology** 37(12): 92-93, 1983.
22. LAWRENCE, B. M. Progress in essential oils. **Perfumer and Flavorist** 17(5): 131-137, 1992.
23. LIN, J.C.C.; NAGY, S.; KLIM, M. Application of pattern recognition techniques to sensory and gas chromatographic flavor profiles of natural orange aroma. **Food Chemistry** 47: 235-245, 1993.
24. LUND, E. D. & BRYAN, W. L. Commercial orange essence: comparison of composition and methods of analysis. **J. Food Science** 42(2): 385-388, 1977.
25. LUND, E. D. & DINSMORE, H. L. Determination of citrus volatiles by headspace analysis. In: CHARALAMBOUS, G. ed. **Analysis of food beverages, headspace techniques**. New York, 1978. 135p.
26. MARTENS, M. & HARRIES, J.M. A bibliography of multivariate statistical method in food science and technology. In: MARTENS, M. & RUSSWURM JR., H., ed. **Food research and data analysis**. London, Applied Science, 1983. p.493-518
27. MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B.G. M.; DEMING, S.N.; MICHOTTE, Y.; KAUFMAN, L. The multivariate approach. In: VANDEGINSTE, B. G. M. & KAUFMAN, L. ed. **Chemometrics: a textbook**. Amsterdam, Elsevier, 1988a. v.2, p.319-337

(Data handling in science and technology)

- 28.MASSART, D. L.; VANDEGINSTE,B. G.M.; DEMING,S.N.; MICHOTTE, Y.; KAUFMAN, L. Principal components and factor analysis. In: VANDEGINSTE, B. G. M. & KAUFMAN, L. ed. **Chemometrics: a textbook**. Amsterdam, Elsevier, 1988b. v.2, p.339-370
(Data handling in science and technology)
- 29.MATTHEWS, R. F. & BRADDOCK, R.J. Recovery and applications of essencial oils from oranges. **Food Technology** 41(1): 57-61, 1987.
- 30.MACLAFFERTY, F. W. & STAUFFER, D. B. **The wiley/nbs registry of mass spectral data**. New York, WILEY, J. ed. 1989. v.2, p.1147
- 31.MCLELLAN, M.R.; LIND, L. R.; KIME, R. W. Determination of sensory components accounting for intervarietal variation in apple sauce and slices using factor analysis. **J. Food Science** 49(3): 751-755, 1984.
- 32.MOSHONAS,M. G. & SHAW, P. E. Flavor and compositional comparison oforange essences and essence oils produced in the United States and in Brazil. **J. Agric. Food Chem.** 38(3): 799-801, 1990.
- 33.MOSHONAS, M.G. & SHAW, P. E. Quantities of volatile flavor components in aqueous orange essence and in fresh orange juice. **Food Technology** 40(11): 100-103, 1986.

- 34.MOSHONAS, M.G. & SHAW, P.E. Mass spectrometry for the identification of citrus flavor components. **Mass Spectrometry Reviews** 4: 397-420, 1985.
- 35.MOSHONAS,M. G. & SHAW, P. E. Direct gaschromatographic analysis of aqueous citrus and others fruit essences. **J. Agric. Food Chem.** 32(3): 526-530, 1984.
- 36.MOSHONAS,M.G.& SHAW P. E. Composition of essence oil overripe oranges. **J. Agric. Food Chem.** 27(6): 1337-1339, 1979.
- 37.NAGY, S. & NORDBY, H. E. The effects of storage conditions on the lipid composition of commercially prepared orange juice. **J. Agric. Food Chem.** 18: 593-597, 1970.
- 38.NAGY, S.; ROUSEFF, R. L.; LEE, H. S. **Thermally degraded flavor in citrus juice products in thermal generation of aromas.** Washington,D.C., 1989. p.331-345. (ACS Symposium Series).
- 39.NAGY,S.;SHAW,P. E.; VELDHUIS, M. K. Fruit Production, processing, practicer, derived products and personnel management. **Citrus science and technology.** Westport, AVI, 1977. v.2, 667p.
- 40.NAIM, M.; STRIEM, B.J.; KANNER, J.; PELEG, H. Potential of ferulic acid as a precursor to off-flavor in stored orange juice. **J. Food Science** 53(2): 500-503, 512, 1988.

41. POWERS, J. J. Techniques of analysis of flavours: integration of sensory and instrumental methods. In: MORTON, I. D. & MACLEOD, A. J. **Food Flavour: introduction**. Amsterdam, Elsevier, 1982. Part. A, p.141. (Developments in food science)
42. RANGANNA, S.; GOVINDARAJAN, V. S.; RAMANA K. V. R. Citrus fruits: varieties, chemistry, technology and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. a. chemistry. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 18(4): 313-386, 1981.
43. ROUSEFF, R. L.; NAGY, S.; NAIM, M.; ZAHAVI, U. Off-flavor development in citrus juice products. In: CHARALAMBOUS, G. ed. **Off-flavor in food and beverages**. Amsterdam, Elsevier, 1992. p.211-227
44. SAWAMURA, M.; SHICHIRI, K.; OTANI, Y.; ZHENG, X. H. Volatile constituents of several varieties of pummelos and characteristics among citrus species. **Agric. Biol. Chem.** 55(10): 2571-2578, 1991.
45. SCHULTZ, T. H.; BLACK, D. R.; BOMBEN, J. L.; MON, T. R.; TERANISHI, R. Volatiles from oranges. 6. Constituents of the essence identified by mass spectra. **J. Food Science** 32(6): 698-701, 1967.
46. SHAW, P. E. Review of quantitative analyses of citrus essential oils. **J. Agric. Food Chem.** 27(2): 246-257, 1979.

47. SHAW, P. E. Essential oils. In: NAGY, S.; SHAW, P. E.; VELDHUIS, M. K., ed. **Citrus science and technology** Westport, AVI, 1977. v.1, p.427-462
48. SHAW, P. E. Aqueous essences. In: NAGY, S.; SHAW, P. E.; VELDHUIS, M. K., ed. **Citrus science and technology** Westport, AVI, 1977. v.1, p.463-478
49. SHAW, P. E.; CARTER, R. D.; MOSHONAS, M. G.; SADLER G. Controlled atmosphere storage of oranges to enhance aqueous essence and essence oil. **J. Food Science** 55(6): 1617-1619, 1990.
50. SHAW, P. E. & COLEMAN, R. L. Quantitative composition of cold-pressed oils. **J. Agric. Food Chem.** 22(5): 785-787, 1974.
51. STEGER, E. & FERREIRA, S. **Curso de processamento de laranja com máquinas FMC: 30 e 31 de Mar., 1982. (apostila).**
52. STENHAGEN, F.; ABRAHAMSSON, S.; MACLAFFERTY, F. W. **Registry of mass spectral data.** In: WILLEY, J. ed. New York, 1974. v.1-2.
53. SUGISAWA, H.; YAMAMOTO, M.; TAMURA, H.; TAKAGI, N. The comparison of volatile components in peel oil from four species of navel orange. **Nippon Shokuhin kogyo Gakkaishi** 36(6): 455-462, 1989.

54. SWIGAR, A. A. & SILVERSTEIN, R. M. **Monoterpenes**: infrared, mass, ^1H NMR, and ^{13}C NMR spectra, and Kovats Indices. Milwaukee, Aldrich Chemical Company, 1981. 130p.
55. TATUM, J. H.; NAGY, S.; BERRY, R. E. Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage. **J. Food Science** 40(4): 707-709, 1975.
56. VORA, J. D.; MATTHEUS, R. F.; CRANDALL, P. G.; COOK, R. Preparation and chemical composition of orange oil concentrates. **J. Food Science** 48(4): 1197-1199, 1983.
57. WHITFIELD, F. B. & SHAW, K. J. Analysis of food off-flavors. In: ADDA, J. ed. **Progress in flavour research** p.221-239, 1984.
58. WOLFORD, R.W.; ALBERDING, G. E.; ATTAWAY, J.A. Analysis of recovered natural orange essence by gas chromatography. **Agric. and Food Chem.** 10(4): 297-301, 1962.
59. ZERVOS, C. & ALBERT, R. H. Application of multivariate techniques to the solution of problems of food regulation: orange juice adulteration. In: CHARALAMBOUS, G. ed. **Flavors and off-flavors**; Proceeding of the 6th International Flavor Conference, Rethymnon, Crete, Greece, 5-7 Jul. 1989. Amsterdam, Elsevier, 1990. 1042p.
60. ZERVOS, C. & ALBERT, R.H. Chemometrics: the use of multivariate methods for the determination and

characterization of off-flavors. In: CHARALAMBOUS, G. ed.
Off-flavors in foods and beverages. Amsterdam,
Elsevier, 1992. p.669