

HELOISA HELENA BERREDO REIS DE MEDEIROS

Fracionamento do Óleo de Laranja utilizando um Sistema Híbrido de Evaporação

CAMPINAS, 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

HELOISA HELENA BERREDO REIS DE MEDEIROS

Fracionamento do Óleo de Laranja utilizando um Sistema Híbrido de Evaporação

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Engenharia Química.

Prof^a. Dr^a. MARIA REGINA WOLF MACIEL - Orientadora Prof^a. Dr^a. PATRÍCIA FAZZIO MARTINS MARTINEZ - Co-orientadora

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado defendida Heloisa Helena Berredo Reis de Medeiros sob a orientação das Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel e Prof^a. Dr^a. Patrícia Fazzio Martins Martinez.

Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel Orientadora

CAMPINAS, 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA – BAE – UNICAMP

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

M467f	Medeiros, Heloisa Helena Berredo Reis de, 1979- Fracionamento do óleo de laranja utilizando um sistema híbrido de evaporação / Heloisa Helena Berredo Reis de Medeiros. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.
	Orientador: Maria Regina Wolf Maciel. Coorientador: Patrícia Fazzio Martins Martinez. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.
	 Óleo de Iaranja. 2. Terpenos. 3. Flavonoides. 4. Evaporação. I. Wolf Maciel, Maria Regina. II. Martinez, Patrícia Fazzio Martins. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Fractionation of orange oil using a hybrid system of evaporation Palavras-chave em inglês: Orange oil Terpenes Flavonoids Evaporation Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Titulação: Doutora em Engenharia Química Banca examinadora: Maria Regina Wolf Maciel [Orientador] Luciana Yumi Akisawa Silva Elenise Bannwart de Moraes Torres César Benedito Batistella Mylene Cistina Alves Ferreira Rezende Data de defesa: 05-09-2014 Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Heloisa Helena Berredo Reis de Medeiros e aprovada em 05 de setembro de 2014 pela banca examinadora constituída pelos Doutores:

Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel (DDPP/FEQ/UNICAMP – Orientadora)

diciona rumi. akizana Silva

Prof^a. Dr^a. Luciana Yumi Akisawa Silva (DCET/ICAQF/UNIFESP – Membro titular)

mulationastor

Dr^a. Elenise Bannwart de Moraes Torres (CNPEM/CTBE – Membro titular)

(VALPET/UNICAMP – Membro titular)

milene Pristing. Ahres Ferreira Resende Dr^a. Mylene Cristina Alves Ferreira Rezende (CNPEM/CTBE – Membro titular)

Este exemplar corresponde à versão final da Tese defendida Heloisa Helena Berredo Reis de Medeiros sob a orientação das Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel e Prof^a. Dr^a. Patrícia Fazzio Martins.

Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel Orientadora

CAMPINAS, 2014

Aos meus país (Jorge, Ruth (*ín memorían*), Edíth e Dída), meu esposo Orival, meus filhos (Heitor, Bernardo e Benício) e, meus írmãos (Flávia, Andréa, Barbara, Marcelo e Patríck) dedico este trabalho pelo total apoio recebido ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

O primeiro agradecimento é para **Deus**, por estar sempre iluminando o meu caminho.

À minha Orientadora, **Prof**^a. **Dr**^a. **Maria Regina Wolf Maciel**, pela orientação, transmissão de conhecimento e oportunidade de trabalhar junto ao seu grupo de pesquisa (Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação – LPDS/FEQ/UNICAMP). Muito obrigada por todo o aprendizado!

À minha Co-orientadora, **Prof**^a. **Dr**^a. **Patrícia Fazzio Martins Martinez**, meu total agradecimento por toda ajuda e amizade. A sua disposição em me auxiliar no esclarecimento de dúvidas e, no compartilhamento de suas experiências e conhecimentos tornaram o caminho menos árduo. Fica registrada a minha admiração por você! Obrigada por tudo!

À **Dr**^a. **Paula Sbaite Duarte dos Santos** pelo apoio prestado para a execução deste projeto de Tese.

Ao Amigo **Msc**. **Anderson de Jesus Bonon** pela valiosa ajuda na realização das análises de cromatografia gasosa, bem como pelas dúvidas esclarecidas acerca da cromatografia.

Ao Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (LRAC – FEQ/UNICAMP) pelas análises de espectrofotometria.

Aos **Membros da Banca** por aceitarem avaliar esta Tese e contribuirem com sugestões de grande importância.

Aos Professores **Dr**. **Rubens Maciel**, **Dr**^a. **Aline Costa** e **Dr**^a. **Roberta Ceriani** pelas aulas ministradas, as quais foram fundamentais para a execução desta Tese.

xi

Aos Amigos e Colegas do Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação – LPDS/FEQ/UNICAMP, em especial ao Cleyson de Souza Galúcio, Edgar Leonardo Martinez, Lamia Zuñiga Liñan, Laura Plazas Tovar, Henderson Ivan Quintero Perez, Cibelem Iribarrem Benites, Jaiver Efrén Jaimes Figueroa, Bruno Colling Klein e Andrea Komesu pela colaboração e amizade.

Ao Cristiano por toda ajuda prestada na parte computacional.

Às secretárias **Márcia Amado** e **Sandra Pires** pela grande ajuda com os documentos necessários para a defesa.

Aos amigos Patrícia Sampaio, Renan Chisté, Tonye Waughon, Arnaldo Castro, Hugo Souza, Ádria Bentes, Johnatt Rocha, Luiza Helena, Silvana Santos, Fernanda Mandelli e Polly Ports pela amizade e apoio em todos os momentos. A presença de vocês tornou minha estadia em Campinas mais descontraída. Sem a ajuda de vocês, as coisas ficariam bem mais difícieis!

Às amigas **Telma Costa** e **Lícia Calandrini** por todos esses anos de amizade e companheirismo que já duram desde a graduação.

Aos meus professores e amigos da Universidade Federal do Pará, **Rosinelson da Silva Pena** e **Hervé Louis Ghislain Rogez** por todo apoio e incentivo.

Aos meus amados pais **Jorge**, **Ruth** (*in memorian*), **Edith** e **Dida** por todo carinho e dedicação. Sem o apoio de vocês, certamente, eu não teria conseguido! Essa vitória é nossa!

Às minhas riquezas **Heitor**, **Bernardo** e **Benício** pelos momentos mais importantes e felizes da minha vida. Vocês são tudo para mim!

xii

Ao meu esposo **Orival Medeiros** pela sua compreensão, paciência, amor e apoio no decorrer desta longa jornada.

Aos meus irmãos **Barbara** e **Marcelo**, em especial às minhas queridas irmãs **Flávia** e **Andréa** pelo total apoio e por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos sejam eles bons e ruins. Amo vocês!

A todos **meus familiares** que contribuíram, de maneira direta ou indireta, para a realização deste tão sonhado Título, em especial à minha prima **Odeth Silveira** (*in memorian*) e à minha madrasta **Graziette Reis** (*in memorian*), as quais sempre me apoiaram e se interessavam pelo andamento do meu trabalho. Vocês estarão sempre presentes no meu coração!

"A persístêncía é o camínho do êxíto." (Charles Chaplín)

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, sendo também considerado um grande produtor e exportador mundial do óleo de laranja. Óleo de laranja doce, um importante subproduto gerado a partir da produção de suco de laranja, é constituído por aproximadamente 400 compostos, dentre os quais, destacam-se as classes de terpenos, oxigenados e flavonoides. Essas classes de compostos apresentam elevado potencial para as indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica e química. O fracionamento deste óleo tem recebido grande atenção da comunidade científica e industrial devido à instabilidade de determinados componentes. Neste trabalho, a separação e concentração dos componentes limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobiletina foram realizadas utilizando-se um sistema híbrido de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar. Três frações resultantes do sistema foram obtidas, são elas: destilado, lateral e resíduo. Através de um planejamento experimental do tipo composto central, observou-se que a temperatura do evaporador é a variável que tem maior influência nos resultados. As maiores concentrações de limoneno foram encontradas nas frações destilado e lateral, chegando-se à concentração de 99,5%. Os compostos valenceno e decanal não foram identificados na fração destilado e suas maiores concentrações estão presentes na fração resíduo. Comportamento semelhante foi observado para os flavonoides tangeritina e nobiletina, os guais foram concentrados na fração resíduo. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, é promissor separar e concentrar os compostos citados acima presentes no óleo de laranja doce utilizando um sistema híbrido de evaporação.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo de laranja; terpenos; flavonoides; evaporação.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest orange producer, and is also considered a major producer and exporter of orange oil. Sweet orange oil, an important by-product generated from the production of orange juice, consists of approximately 400 compounds, among which stand out the classes of terpenes, oxygenated and flavonoids. These classes of compounds have high potential for the food, cosmetic, pharmaceutical and chemical industries. Fractionation of this oil has received great attention of the scientific and industrial community due to the intability of certain components. In this work, the separation and concentration of the components limonene, valencene, decanal, tangeritin and nobiletin were performed using a hybrid system of evaporation at pressures from 2 and 20 mbar. Three fractions of the resulting system were obtained, they are: distillate, side and residue. Through an experimental design of the central composite type, it is observed that the evaporator temperature is the variable that has the greatest influence on the results. The highest concentrations of limonene were found in the distillate and side fractions, reaching to the concentration of 99.5%. The valencene and decanal compounds were not identified in the distillate fraction and its highest concentrations are present in the residue fraction. Similar behavior eas observed for tangeritin and nobiletin flavonoids, which are concentrated in the residue fraction. According to the results obtained in this study it is promising to separate and concentrate the compounds mentioned above present in sweet orange oil using a hybrid system of evaporation.

KEYWORDS: orange oil; terpenes; flavonoids; evaporation.

RESUMO	XVII
LISTA DE FIGURAS	XXV
LISTA DE TABELAS	XXIX
CAPÍTULO 1INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	XXXIII
1.1 INTRODUÇÃO	34
1.2 OBJETIVOS PROPOSTOS	36
1.2.1 Objetivo geral	36
1.2.2 Objetivos específicos	37
1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE	37
CAPÍTULO 2REVISÃO DA LITERATURA	39
2.1 ÓLEO DE LARANJA DOCE	40
2.1.1 Considerações gerais sobre o fruto	40
2.1.2 Produção mundial e nacional de laranja	41
2.1.3 Subprodutos gerados no processamento de suco de laranja	42
2.1.4 Considerações gerais sobre o óleo de laranja doce	44
2.1.5 Composição química do óleo de laranja doce	47
2.1.5.1 Terpenos	50
2.1.5.2 Oxigenados	54
2.1.5.3 Flavonoides	56
2.2 SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO	62
2.2.1 Considerações gerais	62
2.2.2 Estratégia de separação	63
2.2.3 Uso e aplicações do sistema evaporativo	64
2.3 CONCLUSÕES PARCIAIS	65
CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	66
3.1 MATÉRIA-PRIMA	67
3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	68
3.2.1 Sistema híbrido de evaporação	68
3.2.1.1 Considerações gerais	69

SUMÁRIO

3.2.2 Descrição do fracionamento do óleo de laranja71
3.3 METODOLOGIA ANALÍTICA74
3.3.1 Caracterização da matéria-prima74
3.3.2 Cromatografia Gasosa (CG) – Análise dos terpenos e oxigenados75
3.3.2.1 Preparação das amostras75
3.3.2.2 Descrição do método75
3.3.2.3 Identificação e quantificação dos terpenos e oxigenados
3.3.3 Espectrofotometria UV-Visível dos padrões dos compostos
3.3.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) - Análise dos
flavonóides79
3.3.4.1 Preparação da fase móvel e das amostras79
3.3.4.2 Descrição do método81
3.3.4.3 Identificação e quantificação dos flavonóides tangeritina e nobiletina81
3.3.4 Planejamento experimental utilizado nos ensaios de evaporação -
composto central ou do tipo estrela82
3.4 CONCLUSÕES PARCIAIS86
CAPÍTULO 4 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA87
4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE LARANJA DOCE
4.2 VISCOSIDADE E DENSIDADE DO ÓLEO DE LARANJA DOCE
4.3 CONCLUSÕES PARCIAIS94
CAPÍTULO 5 AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE EVAPORAÇÃO
DOÓLEO DE LARANJA95
5.1 INTRODUÇÃO
5.2 BALANÇO DE MASSA96
5.3 AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO DO SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO98
5.4 CONCLUSÃO PARCIAL100
CAPÍTULO 6 CONCENTRAÇÃO DO LIMONENO E SEUS EPÓXIDOS
PRESENTES NO ÓLEO DE LARANJA ATRÁVES DO SISTEMA HÍBRIDO DE
EVAPORAÇÃO101
6.1 LIMONENO
6.1.1 Destilado

6.1.3 Resíduo	114	
5.3 CONCLUSÕES PARCIAIS		
CAPÍTULO 7 CONCENTRAÇÃO DE VALENCENO E DECANAL O	BTIDOS DO	
ÓLEO DE LARANJA ATRÁVES DE UM SISTEMA HÍBRIDO DE EVAP	ORAÇÃO124	
7.1 VALENCENO	125	
7.1.1 Destilado e Lateral		
7.1.2 Resíduo		
7.2 DECANAL	127	
7.2.1 Destilado		
7.2.2 Lateral e resíduo		
7.3 CONCLUSÕES PARCIAIS	130	
CAPÍTULO 8 CONCENTRAÇÃO DA TANGERITINA E NOBILETINA PRESENTES		
NO ÓLEO DE LARANJA PELO SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃ	0131	
8.1 TANGERITINA	132	
8.1.1 Destilado e lateral	132	
8.1.2 Resíduo		
8.2 NOBILETINA	139	
8.2.1 Destilado e lateral	139	
8.2.2 Resíduo	140	
8.3 CONCLUSÕES PARCIAIS	147	
CAPÍTULO 9 CONCLUSÕES		
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS		
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	151	

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Estrutura fisiológica da laranja41
Figura 2.2 - Estrutura química da molécula de d-limoneno
Figura 2.3 - Estrutura química da molécula de valenceno
Figura 2.4 - Estrutura química da molécula de decanal
Figura 2.5 - Estrutura genérica das moléculas dos flavonoides
Figura 2.7 - Estrutura química do composto tangeritina61
Figura 2.8 - Estrutura química do composto nobiletina61
Figura 3.1 - Imagem do equipamento utilizado no sistema híbrido de evaporação
utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS -
FEQ/UNICAMP)68
Figura 3.2 - Fluxograma das etapas de cada ensaio do processo de evaporação do
óleo de laranja72
Figura 3.3 - Imagem do cromatógrafo gasoso Agilent utilizado no Laboratório de
Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS - FEQ/UNICAMP)76
Figura 3.4 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para
limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). 77
limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). 77 Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina,
limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). 77 Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS –
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP). 81 Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP). 81 Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para tangeritina (A) e nobiletina (B).
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). 77 Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP). 81 Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para tangeritina (A) e nobiletina (B). Figura 4.1 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. 78 Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP). 81 Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para tangeritina (A) e nobiletina (B). 82 Figura 4.1 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 2 mbar.
 limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D). Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno. Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 80 Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP). 81 Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para tangeritina (A) e nobiletina (B). 82 Figura 4.1 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 2 mbar. 89 Figura 4.2 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de

Figura 4.3 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 2 mbar. 90 Figura 4.4 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 20 mbar.90 Figura 5.1 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre o rendimento......100 Figura 6.1 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente destilado......105 Figura 6.2 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação Figura 6.3 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação Figura 6.4 - Superfície de resposta do percentual de limoneno na corrente lateral resultante do processo de evaporação a 2 mbar em função da temperatura de evaporação e da temperatura de condensação.113 Figura 6.5 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente de resíduo......116 Figura 6.6 - Gráfico Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 Figura 6.7 - Superfície de resposta do percentual de limoneno do processo de evaporação a 20 mbar em função da temperatura de evaporação e da temperatura de condensação.....120 Figura 8.1 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis do processo de Figura 8.2 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis do processo de Figura 8.3 - Comportamento do percentual de tangeritina do processo de evaporação a 2 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação......138

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Composição percentual média do óleo de laranja obtido por prensagem
a frio
Tabela 2.2 - Composição percentual média das classes de compostos presentes no
óleo de laranja doce49
Tabela 2.3 - Conteúdo de flavonas polimetoxiladas (PMF's) no óleo de laranja doce.
50
Tabela 3.1 - Especificações comerciais do óleo de laranja doce pela indústria
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda67
Tabela 3.2 - Condições experimentais (pressões de 2 e 20 mbar) dos ensaios de
evaporação do óleo essencial de laranja84
Tabela 4.1 - Composição química do óleo de laranja doce utilizado no processo de
fracionamento a pressões de 2 e 20 mbar
Tabela 5.1 - Valores das massas da alimentação, das correntes resultantes do
processo e das perdas de matéria-prima a pressão de 2 mbar96
Tabela 5.2 - Valores das massas da alimentação, das correntes resultantes do97
processo e das perdas de matéria-prima a pressão de 20 mbar
Tabela 5.3 - Rendimento (%) do processo de evaporação do óleo de laranja
realizado a pressões de 2 e 20 mbar. 99
Tabela 6.1 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %)
de limoneno na corrente destilado obtido do processo de evaporação a pressões de
2 e 20 mbar
Tabela 6.2 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar)
em relação à concentração de limoneno na corrente de destilado105
Tabela 6.3 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a
concentração de limoneno na corrente de destilado no processo de evaporação (20
mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1) 106 $$
Tabela6.4-ANOVAdolimonenonacorrentededestilado(20mbar)
desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1)107 $$

Tabela 6.5 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de limoneno na corrente lateral obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 **Tabela 6.6** - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) em relação à concentração de limoneno na corrente lateral......110
 Tabela 6.7 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar)
 em relação à concentração de limoneno na corrente lateral......110 Tabela 6.8 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente lateral no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).112 Tabela 6.9 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente lateral no processo de evaporação (20 mbar) Tabela 6.10 - ANOVA do limoneno na corrente lateral (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1)......113 Tabela 6.11 - ANOVA do limoneno na corrente lateral (20 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).....114 Tabela 6.12 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de limoneno na corrente de resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.....115
 Tabela 6.13 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar)
 em relação a concentração de limoneno na corrente de resíduo......116 Tabela 6.14 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação a concentração de limoneno na corrente de resíduo......117 Tabela 6.15 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente resíduo no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).118 Tabela 6.16 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente resíduo no processo de evaporação (20 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1)....118

Tabela 6.17 - ANOVA do limoneno na corrente resíduo (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1)......119
 Tabela 6.18 - ANOVA do limoneno na corrente resíduo (20 mbar) desconsiderando
 os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1)......119 Tabela 6.19 - Resultados de concentração mássica (em %) dos epóxidos cis e trans de limoneno na alimentação e nas correntes resultantes do processo de evaporação Tabela 6.20 - Resultados de concentração mássica (em %) dos epóxidos cis e trans de limoneno na alimentação e nas correntes resultantes do processo de evaporação a pressão de 20 mbar......122 **Tabela 7.1 -** Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do valenceno na corrente resíduo resultante do processo de evaporação a pressões **Tabela 7.2 -** Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do decanal na corrente lateral resultante do processo de evaporação a pressões de **Tabela 7.3 -** Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do decanal na corrente resíduo resultante do processo de evaporação a pressões de **Tabela 8.1 -** Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de tangeritina na corrente resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de
 Tabela 8.2 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar)
 em relação à concentração de tangeritina......134 Tabela 8.3 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação à concentração de tangeritina......135 Tabela 8.4 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de tangeritina no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1)......136

Tabela 8.6 - ANOVA da tangeritina (2 mbar) desconsiderando os efeitos que nãoforam significativos no processo (p < 0,1).137

Tabela 8.7 - ANOVA da tangeritina (20 mbar) desconsiderando os efeitos que nãoforam significativos no processo (p < 0,1).</td>138

Tabela 8.8 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %)de nobiletina da corrente resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de2 e 20 mbar.140

Tabela 8.9 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar)em relação à concentração de nobiletina.141

Tabela 8.10 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar)em relação à concentração de nobiletina.142

CAPÍTULO 1 -INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO

As matérias-primas naturais são utilizadas pela humanidade desde tempos imemoriais (Mukherjee *et al.*, 2010). É crescente a utilização e a demanda por esses produtos em todo o mundo, principalmente, devido aos problemas de saúde e ambientais atribuídos aos produtos sintéticos (Bandoni e Czepak, 2008). Essa propriedade natural é considerada de grande interesse para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas desde que o uso de substâncias naturais ganhou importância como tendência na substituição de conservantes sintéticos artificiais (Okoh *et al.*, 2010).

Devido ao aumento da produção mundial de alimentos com consequente aumento de resíduos gerados, verifica-se a importância do desenvolvimento de pesquisas para o aproveitamento dos mesmos (Aranha, 2011). O uso doméstico e industrial de grandes quantidades de frutas cítricas, especialmente para produção de suco, resulta no acúmulo de grandes quantidades de subprodutos, tais como cascas, sementes, resíduos membranosos e celulares, os quais representam cerca da metade do peso do fruto. Estes subprodutos podem ser utilizados para a produção de melaço, pectinas, óleos essenciais, limoneno e alimentação de gado (Bocco *et al.*, 1998; Jeong *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006a, 2006b).

Nos últimos anos, devido ao crescente interesse na extração de compostos fenólicos de fontes vegetais, os resíduos agroindustriais se tornaram fontes de matéria-prima potenciais para a produção de diferentes compostos bioativos em consequência de seu baixo custo e ampla disponibilidade (Martins *et al.*, 2011; Wijesinghe *et al.*, 2012).

Oleo de laranja doce obtido a partir da casca dos frutos, principalmente, por prensagem a frio do pericarpo é amplamente utilizado em produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos devido aos seus constituintes químicos responsáveis pelo sabor e aroma característicos (Bagetta *et al.*, 2010; Beneti *et al.*, 2011; Bizzo *et al.*, 2009; Fang *et al.*, 2009). Óleos de laranja têm sido utilizados como agentes aromatizantes durante séculos. Estudos recentes demonstraram que fitoquímicos

encontrados no óleo de laranja também podem ter efeitos benéficos, tais como atividades anticancerígena e anti-inflamatória (Qian *et al.*, 2010).

O limoneno é o principal componente dos óleos de cítricos, não contribuindo para o *flavour* e nem para o desenvolvimento da fragância (Iwai *et al.*, 2005), sendo a prevenção da desidratação e a inibição de crescimento microbiano suas funções naturais nos vegetais (Demyttenaere e Kimpe, 2001). Geralmente, é separado do óleo obtido no suco de laranja pela sua baixa solubilidade em água, alta tendência à autoxidação e polimerização, tornando-se um subproduto industrial adequado para bioconversões a compostos de alto valor comercial (Berger *et al.*, 2002).

Os compostos oxigenados são mais importantes para as características de flavour e fragância de óleos de cítricos, embora se apresentem em menor quntidade (Iwai *et al.*, 2005). Valenceno ($C_{15}H_{24}$) é o principal sesquiterpeno (Vora *et al.*, 1983; Moshonas e Shaw, 1986) presente tanto no suco quanto no óleo da casca de laranja, contribuindo para o seu sabor e aroma (Lücker *et al.*, 2004), sendo o principal constituinte do aroma de laranja (Vora *et al.*, 1983; Moshonas e Shaw, 1986). Decanal, juntamente com o octanal, é o aldeído dominante presente no óleo de laranja doce (Shaw, 1979; Sawamura, 2000).

Nas frutas cítricas, os flavonóides são identificados como flavanonas, flavonas e flavonas altamente metoxiladas, também conhecidas como polimetoxiladas (PMF) (Isaque, 2010). São substâncias de ocorrência única em frutos cítricos, sendo relativamente rara a presença em outras plantas (Li *et al.*, 2004). Casca de laranja representa a fonte mais diversa de flavonóides devido à presença de flavonas polimetoxiladas nobiletina e tangerintina (Londoño-Londoño *et al.*, 2010).

Ao longo dos anos, a possibilidade de fracionar óleos cítricos tem recebido grande atenção devido às aplicações industriais dos produtos de alto valor agregado gerados. O melhor exemplo sobre este assunto é o processamento do óleo da casca de laranja no Brasil, reconhecido como sendo um dos principais produtores de suco de laranja do mundo (Stuart *et al.*, 2001). Com uma produção

anual de 106 milhões de toneladas (Mittal *et al.*, 2012), as frutas cítricas são as mais cultivadas no mundo e a laranja, a principal delas (Bizzo *et al.*, 2009).

Uma das grandes dificuldades tecnológicas em relação aos compostos presentes no óleo de laranja é a sua conservação durante o processamento e a estocagem, pois grande parte dos componentes é sensível ao calor e à oxidação e altamente volátil. O óleo pode apresentar uso limitado para algumas aplicações devido às condições encontradas no meio. Estes óleos podem reagir com outros componentes da formulação alterando suas propriedades (Gargano, 2007).

Com o desenvolvimento do conceito de "química verde" durante os últimos anos, técnicas (processos) ambientalmente amigáveis estão se tornando cada vez mais atraentes (Chemat *et al.*, 2008).

A operação em pressões reduzidas permite maior flexibilidade nas condições de processo e utilização de condições amenas de temperatura, minimizando a degradação térmica dos compostos termolábeis (Beneti, 2009).

O sistema híbrido de evaporação é constituído de um evaporador de caminho curto e de um condensador externo, o que facilita a separação de compostos desejáveis presentes nos óleos essenciais por diversos fatores, tais como: utiliza baixas pressões; substâncias termossensíveis não são facilmente degradadas; obtenção de três correntes no final do processo contendo substâncias de menor volatilidade, substâncias de volatilidade intermediária e substâncias muito voláteis, dentre outros.

1.2 OBJETIVOS PROPOSTOS

1.2.1 Objetivo geral

O principal objetivo proposto nesta tese de doutorado é estudar o fracionamento do óleo de laranja doce utilizando um processo considerado "limpo", denominado sistema híbrido de evaporação com intuito de concentrar e separar os compostos de reconhecida importância (limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobiletina) presentes no referido óleo.
1.2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos estão listados a seguir:

- 1. Caracterizar quimicamente o óleo de laranja doce utilizado nesta pesquisa.
- Avaliar as melhores condições operacionais do sistema híbrido de evaporação através das variáveis (T_{evaporador}, T_{condensador} e vazão de alimentação) ligadas a este processo.
- Fracionar o óleo de laranja doce em três correntes, destilado, lateral e resíduo, utilizando o sistema híbrido de evaporação.
- Calcular o rendimento do sistema híbrido de evaporação em relação às perdas de óleo de laranja doce sofridas ao longo do processo.
- Separar, identificar e quantificar os compostos limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobiletina obtidos nas diferentes correntes resultantes do processo de evaporação.
- 6. Maximizar a quantidade de limoneno nas correntes de destilado e de lateral.
- 7. Maximizar o teor de flavonoides na corrente de resíduo.

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

Este trabalho de Tese encontra-se organizado em 9 capítulos. O Capítulo 1 apresenta uma introdução geral sobre o tema de tese proposto bem como os objetivos, geral e específicos, delineados para a execução desta pesquisa.

O Capítulo 2 apresenta um levantamento bibliográfico acerca do assunto abordado neste trabalho de tese (óleo de laranja e sistema híbrido de evaporação).

No Capítulo 3, a matéria-prima, as metodologias experimentais e analíticas e o planejamento experimental utilizado na realização deste trabalho são apresentados. O Capítulo 4 traz os resultados da caracterização química e física do óleo de laranja doce.

O rendimento do sistema híbrido de evaporação é avaliado no Capítulo 5.

Os resultados do limoneno e de seus epóxidos concentrados nas correntes do processo de evaporação são expostos no Capítulo 6 desta tese.

O Capítulo 7 mostra os resultados do valenceno e decanal obtidos nas correntes do processo de evaporação.

No Capítulo 8 estão apresentados os resultados dos flavonoides concentrados nas correntes do processo de evaporação.

A conclusão desta tese encontra-se descrita no Capítulo 9.

CAPÍTULO 2 -REVISÃO DA LITERATURA

O Capítulo 2 apresenta um levantamento bibliográfico acerca do assunto abordado neste trabalho de tese (óleo de laranja e sistema híbrido de evaporação). São conceituados a fruta laranja, o óleo obtido da sua casca, bem como os compostos de interesse presentes no óleo e nas correntes concentradas. Em seguida, os fundamentos e usos do sistema híbrido de evaporação são descritos.

2.1 ÓLEO DE LARANJA DOCE

2.1.1 Considerações gerais sobre o fruto

A história dos citros pode ser rastreada há mais de 4000 anos e acredita-se que o fruto seja nativo do sudeste da Ásia, de onde se espalhou pelo mundo (Young, 1986). Em muitas partes do mundo, frutas cítricas, especialmente as da classe *Citrus sinensis* (laranja), há séculos permanecem como parte da dieta humana (Okwu, 2006) devido aos seus valores nutricionais e medicinais (Ezejiofor *et al.*, 2011).

Introduzida no Brasil logo no início da colonização, a laranja encontrou no país melhores condições para vegetar e produzir do que nas próprias regiões de origem, expandindo-se por todo o território nacional. Desde 1962, quando começaram as primeiras exportações, a citricultura tem contribuído de forma definitiva para o desenvolvimento do Brasil (Neves *et al.*, 2013).

A laranja é o fruto produzido pela laranjeira (*Citrus sinensis*), uma árvore pertencente à família *Rutaceae*, gênero *Citrus*, espécie *sinensis*. A laranja é um fruto híbrido, resultante do cruzamento entre pomelo (*Citrus maxima*) e tangerina (*Citrus reticulata*). Seu sabor varia do doce ao levemente ácido (Mattos Júnior *et al.*, 2005). Frutas cítricas são esféricas, possuem uma casca áspera, com pigmentação entre laranja escura ou avermelhada, a laranja clara, amarela ou verde (Manthey, 2004; Ortiz, 2002). Geralmente, o tamanho dos frutos, medido pelo seu diâmetro, varia de 54 a 106 mm de comprimento e 57 a 116 mm de largura (CEASA CAMPINAS, 2014). O endocarpo é rico em açúcares solúveis e

contém quantidades significativas de vitamina C, pectina, fibras, diferentes ácidos orgânicos e sal de potássio, os quais dão aos frutos sua característica de sabor cítrico (Roger, 2002). A Figura 2.1 apresenta a estrutura fisiológica da laranja.



Figura 2.1 - Estrutura fisiológica da laranja (Portal São Francisco, 2013).

A casca dos frutos cítricos possui diversos metabólitos secundários, responsáveis por sua proteção contra fatores bióticos e abióticos, como terpenóides, carotenóides, cumarinas, furanocumarinas flavonóides. е principalmente flavononas e flavonas polimetoxiladas, raras em outras plantas (Ahmad et al., 2006). Esses compostos estão presentes em extratos e óleos de citros, e têm despertado interesse em diversas áreas em virtude da bioatividade, como atividade antibacteriana (Friedmann et al., 2004; Dabbah et al., 1970; Bisignano e Saija, 2002; Fisher e Phillips, 2008; Girennavar et al., 2008; Ashok Kumar et al., 2011; Stanley e Jurd, 1971), antifúngica (Liu et al., 2012; Caccioni et al., 1998; Mabry e Ulubelen, 1980), antioxidante (Patil et al., 2009; Choi et al., 2000), inseticida (Siskos et al., 2008), anti-inflamatória (Mabry e Ulubelen, 1980), entre outras.

2.1.2 Produção mundial e nacional de laranja

Os *citrus* são as frutas mais produzidas e consumidas no mundo, principalmente laranjas, tangerinas, limas e limões (Oliveira *et al.*, 2008). O Brasil é o país que mais produz esse gênero (FAO, 2011). O Brasil detém 50% da

produção mundial de suco de laranja, e exporta 98% do que produz, conseguindo expressivos 85% de participação no mercado mundial (Neves *et al.*, 2013).

A produção de cítricos está distribuída por todas as regiões do país, concentrada principalmente na Região Sudeste em decorrência da produção de laranja doce, tangerina, limão e lima no estado de São Paulo, o qual responde por cerca de 70% da produção nacional de laranja e 98% da produção de suco (Almeida e Passos, 2011).

Segundo dados da CONAB, foi estimado no segundo levantamento de safra de laranja 2013/14, que o volume da fruta destinada à moagem industrial será de 252,7 milhões de caixas de 40,8 kg (correspondente a 85,14% da produção comercial) e a produção esperada de laranja para comercialização "*in natura*" será de 44,1 milhões de caixas de 40,8 kg (14,86% da produção comercial), totalizando produção comercial de 296,8 milhões de caixas de 40,8 kg para o estado de São Paulo (CONAB, 2013). Nota-se que o comportamento da citricultura paulista, por seu expressivo volume de produção, praticamente determina a tendência da citricultura brasileira (IEA, 2013).

2.1.3 Subprodutos gerados no processamento de suco de laranja

Produzidos em toneladas/dia, subprodutos cítricos representam um problema para o manejo, poluição e questões ambientais devido à deterioração microbiana. A secagem de tais produtos é necessária antes do processamento, porém o custo de secagem, armazenamento e transporte geram limitações econômicas adicionais para o processamento dos subprodutos ao invés de sua integração na alimentação animal ou como fertilizante. Portanto, novos aspectos a cerca do uso destes subprodutos para melhor exploração na produção de aditivos ou suplementos alimentares com alto valor nutricional e economicamente atraente tem conquistado cada vez mais integresse (Sahraoui *et al.*, 2011).

Tanto no cultivo quanto no processamento de citros podem ser gerados grandes volumes de resíduos. No manejo dos pomares de citros, é realizado o raleio, que é a remoção e o descarte de parte dos frutos verdes para atingir melhor

qualidade final (Chon e Chon, 1997). O resíduo do processamento de frutos cítricos é o resíduo sólido gerado após a extração comercial do suco das frutas. Aproximadamente 90% deste resíduo são provenientes do processamento de laranjas, composto por casca (albedo e flavedo), pedaços de membranas e bagaço da polpa, vesículas de suco e sementes, contabilizando de 44 - 50% do peso total da fruta (Widmer *et al.*, 2010).

Estes subprodutos cítricos são considerados uma fonte valiosa de ingredientes funcionais, notadamente flavonoides, fibras alimentares e óleos essenciais (Senevirathne *et al.*, 2009). Além desta aplicação, a partir do exocarpo, mesocarpo e endocarpo podem ser obtidos produtos como doces, aminoácidos e diversas vitaminas (principalmente, vitamina C) e, essências aromáticas (oleosa e aquosa) (Tienne *et al.*, 2004).

Segundo Pelizer *et al.* (2007), os resíduos de frutos cítricos são uma rica fonte de flavonoides naturais, considerando a quantidade de resíduo gerado e a alta concentração desses compostos fenólicos. Devido ao seu elevado teor em flavonoides (hesperidina, neohesperidina, diosmina, nobiletina e tangeritina) (Londoño-Londoño *et al.*, 2010), cascas de cítricos podem ser exploradas por ambas as indústrias farmacêutica e alimentícia (Ma *et al.*, 2008). Apesar disso, os compostos presentes na casca de cítricos são, geralmente, processados na forma de subprodutos ou desperdiçados, resultando na poluição ambiental (Ma *et al.*, 2008).

Alguns derivados dos resíduos da laranja entram na composição de vários produtos, como solventes industriais, iscas para insetos, componentes aromáticos, tintas, adesivos, medicamentos, gomas de mascar, combustíveis (Tienne *et al.*, 2004), polpa congelada, melaço, D-limoneno, suco extraído da polpa ("Pulp Wash"), entre outros (Darros-Barbosa e Curtolo, 2005).

Processamento de laranja resulta em um aumento na produção de subprodutos cítricos, dos quais o óleo essencial é o mais importante (Guenther, 1974). Óleos essenciais de frutas cítricas são extraídos da casca de frutas frescas utilizando um sistema de extração por prensagem a frio (Espina *et al.*, 2011).

Óleo essencial de laranja é amplamente utilizado como agente aromatizante para bebidas, sorvetes, bolos, purificadores de ar, produtos caseiros e perfumes (Ferhat *et al.*, 2006), bem como conservantes em produtos farmacêuticos e aditivos alimentares (Espina *et al.*, 2011). Na indústria de suco de laranja, o óleo é utilizado para restaurar, parcialmente, o sabor cítrico característico do suco, o qual é perdido durante a concentração térmica (Högnadóttir *et al.*, 2003).

Devido ao fato de cascas de laranja doce (*C.sinensis*) comprovarem ser boas fontes de óleo essencial, a extração de óleo a partir desta fonte não só irá proporcionar uma fonte barata desta abundante matéria-prima industrial, mas também um método complementar para a gestão de resíduos gerados a partir do consumo destas frutas (Ezejiofor *et al.*, 2011).

2.1.4 Considerações gerais sobre o óleo de laranja doce

Tecidos vegetais são constituídos de células. Algumas delas existem na forma de glândulas (externa ou interna), as quais são preenchidas com óleo. Uma característica das glândulas externas é de sua membrana ser muito fina, podendo ser facilmente rompida, como ocorre com as frutas cítricas. Óleo cítrico está presente em sacos ou glândulas localizadas em diferentes profundidades na casca da fruta (Ferhat *et al.*, 2007). Durante o processamento de suco, essas glândulas são rompidas e óleos voláteis liberados (Raeissi *et al.*, 2008).

De acordo com padrão ISO, óleos essenciais são definidos como produtos obtidos a partir de matérias-primas vegetais, os quais devem ser isolados apenas por meios físicos. Referente à sua forma de obtenção, os óleos essenciais podem ser extraídos através de inúmeras técnicas e suas propriedades dependem do tipo de extração. Os métodos mais utilizados são: extração por arraste a vapor, hidrodestilação, prensagem a frio, extração por alta pressão e extração por CO₂ supercrítico (Okoh *et al.*, 2010).

A temperatura usada na extração pode interferir na qualidade final do óleo essencial, pois, durante a extração, moléculas termossensíveis de um princípio

ativo podem ser quebradas e oxidadas em produtos de menor eficácia ou, às vezes, gerar subprodutos tóxicos (Flégner, 2010). Diferentes métodos de extração podem levar a diferentes rendimentos de óleos essenciais. A escolha do método adequado é muito importante para obter mais componentes desejados com atividades fisiológicas mais elevadas (Jiang *et al.*, 2011).

O desenvolvimento de novas técnicas de extração para produtos químicos, alimentícios e farmacêuticos, ultimamente, tem recebido muita atenção devido ao aumento dos custos com energia e na redução de emissão de CO₂. Pesquisadores estão estudando novas técnicas, as quais podem levar a processos de extração mais compactos, seguros, eficientes, econômicos e sustentáveis (Ganzler *et al.*, 1986; Lucchesi *et al.*, 2004; Luque de Castro *et al.*, 1999; Reverchon, 1997; Rezzoug *et al.*, 2000; Vinatoru, 2001).

Quanto aos frutos cítricos, a extração normalmente é feita pela prensagem a frio do pericarpo (Bizzo *et al.*, 2009) e uma vez que este procedimento produz uma emulsão aquosa, esta é, então, centrifugada para recuperar o óleo essencial, o qual apresenta um rendimento relativamente baixo (0,05%) (Ferhat *et al.*, 2007). O óleo puro se apresenta límpido, de cor amarelo-escura, com um aroma forte característico (Santos *et al.*, 2003; Bizzo *et al.*, 2009). Os óleos extraídos são chamados de *cold-pressed oils* (Yamanaka, 2005).

Oleo prensado a frio, também chamado óleo de casca de cítricos, é uma mistura de componentes voláteis, tais como terpenos e hidrocarbonetos oxigenados e, não voláteis, tais como pigmentos e ceras. Apesar do teor elevado, os terpenos não contribuem muito para o sabor ou aroma do óleo, e devido ao fato de serem instáveis ao calor e à luz, estes devem ser removidos para estabilizar o produto final. A fração oxigenada contribui muito para o sabor característico de óleos cítricos e consiste principalmente de alcoóis, aldeídos e cetonas (Stuart *et al.*, 2001). Devido à composição do óleo essencial de laranja, este apresenta baixa solubilidade em água e alta tendência à autoxidação (Santos *et al.*, 2003).

Oleos de frutas cítricas tem aceitação nas indústrias de bebidas e alimentos infantis, bem como em produtos orgânicos devido os mesmos serem considerados GRAS (Generally Recognised As Safe) pela Food and Drug Administration (2005)

(Gerhardt *et al.*, 2012). Além disso, os óleos essenciais de cítricos foram classificados como GRAS devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas, tais como antimicrobianas (Fisher e Phillips, 2008; Rajkumar *et al.*, 2010), antifúngicas (Carmo *et al.*, 2008; Chutia *et al.*, 2009), antioxidantes (Rehman, 2006; Wannes *et al.*, 2010), anti-inflamatórias e ansiolíticas (Pultrini *et al.*, 2006; Mendes *et al.*, 2010) e antitumoral (Silva, 2008).

Oleo cítrico possui alta capacidade antibacteriana, pode ser um excelente antisséptico utilizado em superfícies de contato com alimentos a fim de reduzir a ocorrência de contaminação cruzada. Além disso, a aplicação desses óleos, geralmente, afeta negativamente suas características sensoriais (Fisher e Philips, 2008).

O Brasil é considerado um grande produtor e exportador mundial de óleos de lima e de laranja (Bizzo *et al.*, 2009). Óleo de laranja doce fornece um grande potencial de uso comercial sendo amplamente utilizado nas indústrias alimentar, farmacêutica, cosmética e química, devido ao seu sabor e aroma. Este óleo é uma mistura natural complexa constituída por mais de 100 compostos (Raeissi *et al.*, 2008; Fang *et al.*, 2009; Beneti *et al.*, 2011; Stuart *et al.*, 2001).

Óleos de laranja têm sido utilizados como agentes aromatizantes durante séculos. Estudos recentes demonstraram que fitoquímicos encontrados no óleo de laranja também podem ter efeitos benéficos, tais como atividades anticancerígena e anti-inflamatória (Qian *et al.*, 2010). Lv *et al.* (2012) mostraram o efeito positivo do óleo da casca de laranja microencapsulado na diminuição do estresse oxidativo e aumento da resposta imune em ratos portadores de otite média aguda.

Metabólitos secundários de plantas geralmente apresentam atividades biológicas notáveis, tais como antioxidante, antimicrobiana e antitumoral. Enquanto alguns compostos de baixo teor em óleo de laranja doce, tais como decanal, linalol, valenceno e octanal, são utilizados como perfume, as aplicações desses compostos podem ser expandidas, pois os mesmos apresentam atividades biológicas (Liu *et al.*, 2012).

Lin *et al.* (2010) mostraram a eficácia do óleo essencial de laranja para inativar bactérias em superfícies (aço inoxidável e plástica) que estão em contato com alimentos. Estes são os primeiros estudos publicados relacionando óleo essencial de laranja com a inativação de bactérias patogênicas em superfícies de contato com alimentos.

Devido à sua grande importância nutracêutica e econômica, diversas pesquisas têm sido realizadas visando identificar a composição química dos óleos essenciais de cascas e folhas de diferentes espécies de cítricos (Gerhardt *et al.*, 2012).

2.1.5 Composição química do óleo de laranja doce

Óleos essenciais cítricos são misturas complexas de aproximadamente 400 compostos (Nannapaneni *et al.*, 2009). Quimicamente, os óleos essenciais podem ser constituídos por hidrocarbonetos, alcoóis, ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis e vários compostos orgânicos nitrogenados e sulfurados (Corazza, 2002). A composição química exata dos óleos é característica de cada espécie e os seus diferentes constituintes são sintetizados pelo fruto durante o seu crescimento natural. Alguns óleos são ricos em apenas um composto, os quais são utilizados como fonte comercial desse composto particular. Por exemplo, o óleo de capim-limão contém de 50 a 70% de citral, enquanto que óleo de cítricos contém 90% de limoneno (Stashenko *et al.*, 1996, Vekiari *et al.*, 2002).

É interessante notar que a composição química de óleos da casca e da folha de frutas cítricas é particularmente propenso a alterações qualitativas e quantitativas devido ao genótipo, origem, clima, estação, estádio de maturação, etc (Caccioni *et al.*, 1998; De Pasquale *et al.*, 2006; Vekiari *et al.*, 2002).

Óleos essenciais cítricos contém 85-99% de componentes voláteis e 1-15% de componentes não voláteis (Fisher e Phillips, 2008). Os constituintes voláteis são uma mistura de monoterpenos (tal como, limoneno) e sesquiterpenos (tal como, valenceno) e, a fração não volátil constituída por seus derivados oxigenados, incluindo aldeídos (tal como, citral e decanal), cetonas, ácidos,

alcoóis (tal como, linalol), ésteres (Borgmann *et al.*, 2004; Flamini *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2001) e flavonoides (Elston *et al.*, 2005). A Tabela 2.1 apresenta a composição do óleo de laranja obtido por prensagem a frio e a Tabela 2.2 mostra as classes de compostos presentes no óleo de laranja doce.

Componente	% (m/m)	Componente	% (m/m)	
		<i>cis</i> -Carveol	0,01	
α-lujeno	0,01			
α -Pineno	0,07	Nerol e Citronelol	0,01	
Canfeno	0,01	Neral	0,02	
Sabineno e β -Pineno	0,42	Geranial	0,05	
Mirceno	2,49	Perilaldeído	0,01	
Octanal	0,10	Acetato de bornila	0,01	
α -Felandreno	0,03	Undecanal	0,01	
δ -3-Careno	0,31	Acetato de citronelila	0,01	
α -Terpineno	0,01	Acetato de nerila	0,01	
ρ-Cimeno	Traços	α-Copaeno	0,02	
Limoneno	94,69	Acetato de geranila	0,01	
(E)-β-Ocimeno	0,03	β-Cubebeno e $β$ -Elemeno	0,02	
γ-Terpineno	0,04	Dodecanal	0,01	
Hidrato de <i>cis</i> -Sabineno	0,01	β-Carifileno	0,01	
Octanol	0,01	γ-Cadineno	0,02	
Terpinoleno	0,05	α-Umuleno	0,02	
Linalol	0,32	D-Germacreno	0,02	
Nonanal	0,02	α-Farneseno	0,11	
Óxido de <i>cis</i> -Limoneno	0,01	δ-Cadineno	0,03	
Óxido de <i>trans</i> -Limoneno	0,02	Z-Nerolidol	0,01	
Citronelal	0,04	β-Sinensal	0,02	
α -Terpineol	0,05	Nootkatona	0,01	
Decanal	0,08	Outros	Traços	

Tabela 2.1 - Composição percentual média do óleo de laranja obtido por prensagem a frio.

Fonte: Verzera et al., 2004 (modificado).

Componente	% (m/m)	
Hidrocarbonetos	99,05	
Monoterpenos	98,80	
Sesquiterpenos	0,25	
Compostos oxigenados	0,83	
Compostos carbonílicos	0,37	
Alcoóis	0,42	
Ésteres	0,04	
Aldeídos alifáticos	0,22	
Aldeídos terpênicos	0,14	

Tabela 2.2 - Composição percentual média das classes de compostos presentes no óleo de laranja doce.

Fonte: Verzera et al., 2004 (modificado).

Limoneno é o maior componente químico de óleos essenciais cítricos, com sua composição variando de 32 a 98% (Svoboda e Greenaway, 2003). Outros compostos de baixo teor, como decanal, linalol, valenceno e octanal, constituem a fração que confere o sabor cítrico característico dos óleos (Beneti *et al.*, 2011; Fang *et al.*, 2009).

Os terpenos mais simples (mono e sesquiterpenos) são os principais constituintes de óleos essenciais e são amplamente utilizados na indústria de perfumaria, enquanto que di e triterpenos são menos voláteis e são obtidos a partir de gomas e resinas de plantas (Trudgill, 1986).

Os flavonoides presentes nos óleos cítricos são, principalmente, flavonas polimetoxiladas (Dugo et al., 1996). Polimetoxiflavonas presentes em óleo de laranja consiste de seis compostos principais, são eles: sinensetina (5,6,7,3',4'pentametoxiflavona), quercetagetina hexametil éter (3,5,6,7,3',4'hexametoxiflavona), nobiletina (5,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona), (5,6,7,4'-tetrametoxiflavona), 3,5,6,7,8,3',4'tetrametilscutelareina heptametoxiflavona e tangeretina (5,6,7,8,4'-pentametoxiflavona) (McHale e Sheridan, 1989) e, as concentrações destes compostos no óleo de laranja estão apresentadas na Tabela 2.3.

Composto	(g/100g de óleo)				
Tangeritina	0,06				
Heptametoxiflavona	0,071				
Nobiletina	0,039				
Tetrametilscutelareina	0,024				
Hexametoxiflavona	0,007				
Sinensetina	0,006				

 Tabela 2.3 - Conteúdo de flavonas polimetoxiladas (PMF's) no óleo de laranja doce.

Fonte: Dugo et al., 1996.

Outras flavonas metoxiladas estão presentes em concentrações menores (geralmente menos que 3% do conteúdo total de flavonas polimetoxiladas) (He *et al.*, 1997).

2.1.5.1 Terpenos

Os terpenos são metabólitos secundários de plantas, os quais são produzidos, em parte, como uma defesa contra microrganismos e insetos, além de suas propriedades de polinizadores (Gershenzon e Dudareva, 2007). Possuem uma diversidade de propriedades biológicas incluindo ação antimicrobiana, fungicida, antiviral, anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória e antiparasitária (Paduch *et al.*, 2007).

Os terpenos, $(C_5H_{10})_n$, são classificados quanto ao número de unidades de isopreno (C_5H_8) presentes em sua estrutura, podendo receber a denominação de monoterpenos (n = 2), sesquiterpenos (n = 3), diterpenos (n = 4), triterpenos (n = 6) e carotenos ou tetraterpenos (n = 8) (Benelli, 2010; Fontanille, 2002). Para monoterpenos, outra classificação se baseia na ciclização de sua cadeia carbônica. Assim, eles podem ser monoterpenos acíclicos (moléculas abertas), monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos. Por definição, o termo "terpeno" designa os representantes da família dos hidrocarbonetos, sem grupos funcionais na molécula. Já "terpenóides" se referem aos terpenos oxidados, como álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas ou epóxidos terpênicos (Fontanille, 2002). Os monoterpenos, importantes constituintes dos óleos essenciais, são altamente voláteis, sendo arrastados pelo vapor de água livre de outros componentes presentes nos óleos essenciais (Bandoni e Czepak, 2008). Sesquiterpenos são metabólitos secundários formados pela via do ácido mevalônico em frutas cítricas. Maruyama *et al.* (2001) descrevem como sesquiterpenos são formados a partir do farnesil pirofosfato (FPP). Unidades de isopreno são agrupadas para formar geranil pirofosfato (C₁₀) e, posteriormente, o FPP (C₁₅). Sharon-Asa *et al.* (2003) mostraram a síntese enzimática do valenceno, o qual é formado pela conversão do FPP.

Monoterpenos, como o limoneno, não contribuem muito para o sabor e são relativamente instáveis ao calor e à luz e, insolúveis em água. Portanto, muitas vezes se faz necessário remover tais classes de compostos do óleo de laranja doce para enriquecer os compostos oxigenados, que é a fração de interesse industrial (Beneti *et al.*, 2011; Corazza, 2002; Fang *et al.*, 2009; Guenther *et al.*, 1975; Veriotti e Sacks, 2002). Devido à sua instabilidade, monoterpenos não são parâmetros para medir a qualidade do óleo, sendo esta determinada pelos compostos oxigenados, especificamente o teor de aldeído (Dugo, 1994; Dugo *et al.*, 1994).

Oleos essenciais ricos em monoterpenos são reconhecidos como conservantes de alimentos (Baratta *et al.*, 1998; Helander *et al.*, 1998; Ruberto e Baratta, 2000) e como antioxidantes naturais (Yanishlieva *et al.*, 1999), os quais são ativos contra determinados tipos de cânceres (Crowell, 1999; Kris-Etherton *et al.*, 2002). Com efeito, determinados monoterpenos alimentares têm atividade antitumoral que pode prevenir a formação ou progresso de câncer e ainda causar regressão em tumores (Crowell, 1999).

Embora o óleo de laranja seja constituído por mais de 90% de terpenos, poucos terpenos apresentam atividade aromática (Högnadóttir *et al.*, 2003). Eles servem apenas como um veículo do *flavour* para compostos oxigenados, os quais estão presentes em baixas concentrações (Shaw, 1979).

Limoneno [1-metil-4-(1-metiletenil)ciclo-hexeno] (Figura 2.2), o principal componente do óleo de laranja, é um monoterpeno cíclico pertencente à família

dos hidrocarbonetos, o qual ocorre em duas formas opticamente ativas, 4R-(+) e 4S-(-) (NICNAS, 2002; Bandoni e Czepak, 2008). Possui massa molar de 138 g/mol, temperatura de ebulição de $176^{\circ}C$ (1 atm) e sua fórmula molecular é $C_{10}H_{16}$. D-limoneno ((+)-limoneno) também é conhecido quimicamente como o enantiômero-(R). (+)-limoneno, o sinal + refere-se ao comportamento que esse enantiômero apresenta quando exposto à luz plano-polarizada, desvia a luz polarizada no sentido horário, por isso o símbolo (+). D-limoneno, a letra "D" significa o mesmo que o símbolo (+), vem da palavra "dextrógiro", que significa "desvia a luz polarizada para a direita". Por possuir um centro quiral, ou seja, um carbono assimétrico, apresenta isomeria óptica. Portanto, existem dois isômeros ópticos: o D-limoneno e o L-limoneno (Pakdela *et al.*, 2001). É biossintetizado por muitas espécies de plantas, tais como os cítricos, onde é comumente encontrado nas cascas de frutas cítricas (NICNAS, 2002; Bandoni e Czepak, 2008).



Figura 2.2 - Estrutura química da molécula de d-limoneno (Bicas, 2009).

Limoneno apresenta ampla aplicação em áreas industriais e domésticas (Ezejiofor *et al.*, 2011). Diversos usos têm sido relatados por limoneno principalmente na formulação de solventes para vários produtos intermediários e finais (produtos de limpeza, desengordurantes, cosméticos e perfumes) (NICNAS, 2002). Nos últimos anos, a demanda de D-limoneno tem aumentado muito devido ao seu uso em solventes biodegradáveis (Benelli, 2010).

Virot *et al.* (2008) relataram que o D-limoneno pode ser usado como solvente verde ao invés de solventes perigosos obtidos do petróleo para determinação de óleos e gorduras. D-limoneno é considerado um composto

químico muito versátil, o qual que pode ser usado numa ampla variedade de aplicações, sendo mais seguro e mais eficaz do que soluções típicas de limpeza.

Valenceno (C₁₅H₂₄) (Figura 2.3) é o principal sesquiterpeno (Vora *et al.*, 1983; Moshonas e Shaw, 1986) presente tanto no suco quanto no óleo da casca de laranja, contribuindo para o seu sabor e aroma (Lücker *et al.*, 2004), sendo o principal constituinte do aroma de laranja (Vora *et al.*, 1983; Moshonas e Shaw, 1986). Possui massa molar de 204 g/mol e temperatura de ebulição de 270^oC (Zampieri, 2006). Durr e Schobinger (1981) analisaram a contribuição dos voláteis para o aroma do suco de laranja e afirmaram que valenceno é um dos 12 compostos importantes ou desejáveis no aroma do suco de laranja. Kotachi *et al.* (2003) citam a importância do óleo de laranja por ser barato e possuir uma concentração elevada de valenceno, o qual contribui para o desejável sabor de laranja característico (Swaine *et al.*, 1990; Rich, 1990).



Figura 2.3 - Estrutura química da molécula de valenceno (Bicas, 2009).

Valenceno pode ser oxidado através das vias química ou microbiana para produzir *nootkatona* e *nootkatol*, os quais são compostos de alto valor agregado (Lücker *et al.*, 2004). A *nootkatona* é uma cetona sesquiterpênica produzida comercialmente através da extração do fruto *grapefruit* ou pela oxidação do valenceno, apresenta efeitos cupincida e repelente. É considerada um flavorizante natural, não sendo tóxica para humanos (Zampieri, 2006). O *nootkatol* é um álcool, sendo um intermediário da reação de oxidação do valenceno a nootkatona (Fernandes, 2009).

Muitos sesquiterpenos são biologicamente ativos como precursores de outros metabólitos com função biológica e, propriedades flavorizante e medicinal (Shaffer *et al.*, 1975; Furusawa *et al.*, 2005; Sowden *et al.*, 2005).

O nível de valenceno em óleos de laranja pode ser correlacionado positivamente com a qualidade aromática do óleo, mas não tem contribuição, positiva ou negativa, direta de aroma de laranja. Se os níveis de valenceno estiverem altos, então a fruta foi colhida madura, produzindo um maior aroma desejável e, consequentemente, tornando o óleo de melhor qualidade e com um maior valor comercial, enquanto que, se os níveis de valenceno estiverem baixos, pode indicar que a fruta foi colhida antes de atingir sua maturidade e o óleo poderá não possuir níveis elevados dos compostos que contribuem para um *flavour* de qualidade (Elston *et al.*, 2005).

Estudos anteriores (Coggins *et al.*, 1969; Del Rio *et al.*, 1992; Sharon-Asa *et al.*, 2003) relataram que estes compostos são formados no flavedo em níveis crescentes conforme o fruto amadurece. Coggins *et al.* (1969) examinaram as mudanças nos constituintes do óleo essencial da casca de laranja. Eles descobriram que concentrações de valenceno na fruta aumentaram com o aumento da maturidade. Além disso, Shaw e Coleman (1974) observaram um aumento nos níveis de valenceno de 0,04% em óleos de laranja no início da maturidade, 0,12% em óleos com maturidade intermediária e, 0,15% nos óleos de laranja no final da safra, ou seja, frutos de laranja já maduros.

2.1.5.2 Oxigenados

A fração oxigenada compreende 4% do óleo de laranja doce, a qual é altamente aromática e a principal responsável pelo aroma cítrico característico (Vora *et al.*, 1983). Estes compostos aromáticos são importantes matérias-primas com amplas aplicações principalmente como flavorizantes e nas indústrias alimentícias (Reische *et al.*, 1998). Eles também podem servir como um excelente material de partida na síntese de química fina, incluindo novas fragrâncias para indústria cosmética (Lis-Balchin e Hart, 1999).

Compostos oxigenados e sesquiterpenos possuem maiores massas molares e polaridades quando comparados aos monoterpenos, os quais apresentam maior volatilidade (Sonsuzer *et al.*, 2004). Essas características são

as responsáveis pela seletividade destes compostos durante um processo de separação dos mesmos.

Compostos oxigenados são mais valiosos que hidrocarbonetos monoterpenos em termos de sua contribuição para fragrância do óleo essencial (Ferhat *et al.*, 2007), qualidade essa que os tornam uma fração de interesse industrial (Beneti *et al.*, 2011; Corazza, 2002; Fang *et al.*, 2009 ;Guenther *et al.*, 1975; Veriotti e Sacks, 2002). Devido à sua instabilidade, monoterpenos não são parâmetros para medir a qualidade do óleo, sendo esta determinada pelos compostos oxigenados, especificamente o teor de aldeído (Dugo, 1994; Dugo *et al.*, 1994).

O teor de aldeídos alifáticos é um padrão muito importante para avaliar a qualidade do óleo de laranja doce, uma vez que estes aldeídos, especialmente decanal e octanal, caracterizam as notas olfativas do óleo de laranja doce (Verzera *et al.*, 2004). As propriedades de transferência de massa dos aldeídos não diferem muito das dos alcoóis porque eles têm uma faixa semelhante de massas molares (Shen *et al.*, 2002).

Antioxidantes provenientes de fontes naturais estão associados aos benefícios para a saúde, já compostos oxigenados estão relacionados como substâncias que agem positivamente contra doenças cardíacas, malária, doenças neurodegenerativas, AIDS e câncer (Aruoma *et al.*, 1995). Por estas razões, o mercado de antioxidante natural está aumentando rapidamente (Pourmortazavi e Hajimirsadeghi, 2007).

Aldeídos são os principais contribuintes para o aroma do óleo essencial de laranja. Decanal (Figura 2.4), um aldeído formado a partir da degradação de ácidos graxos insaturados, tais como os ácidos oléico, linoléico e linolênico, é responsável pela produção de alguns dos aromas mais intensos e importantes no óleo de laranja doce, apresentando atividade aromática acentuada o que contribui com notas cítricas para o óleo. Possui massa molar de 156 g/mol e temperatura de ebulição de 208°C (Högnadóttir e Rouseff, 2003; Lin e Rouseff, 2001).



Figura 2.4 - Estrutura química da molécula de decanal (Sigma-Aldrich, 2014).

Decanal é considerado como representante potencial dos compostos oxigenados devido ao fato de sua concentração no óleo ser tão elevada quanto a do linalol (Temelli *et al.*, 1990). Kesterson e Hendrickson (1962) avaliaram as propriedades químicas e sensoriais de vários óleos de laranja em diferentes fases de maturação. Como esperado, os autores observaram um aumento do teor de aldeídos de 1,50% para 1,85% no fruto mais maduro.

Liu *et al.* (2012) estudaram a separação de decanal, valenceno, linalol e octanal do óleo de laranja doce pelo uso combinado de destilação molecular e cromatografia em coluna para avaliar as capacidades antioxidante e antimicrobiana dos referidos compostos. Decanal, valenceno e linalol apresentaram atividade antioxidante. Quanto à atividade antimicrobiana, decanal, octanal e linalol apresentaram efeitos inibitórios e bactericida. Shanoon *et al.* (2011) mostraram que dos compostos antimicrobianos presentes no óleo de laranja da espécie valência estudados (linalol, citral e decanal), decanal apresentou ter o maior potencial inibidor para a bactéria da espécie *Listeria*. No entanto, estudos adicionais são necessários para avaliar os efeitos sensoriais do decanal em produtos alimentícios.

2.1.5.3 Flavonoides

Estes compostos possuem duas ou mais metoxilações na sua estrutura básica. Nos últimos anos, PMF's têm sido estudadas por apresentarem vários benefícios. Eles são um importante componente do mecanismo de defesa dos vegetais contra vários patógenos causadores de doenças (Del Rio *et al.*, 1998). Eles são conhecidos por ocorrer em proporções variadas, em diferentes espécies

de cítricos. Por isso, são utilizados como compostos marcadores para detectar adulteração em sucos cítricos (Geoffrey *et al.*, 2002).

Flavonoide (do latim *flavus* "amarelo") é o termo genérico com que se identificam uma série de metabólitos secundários das plantas (Isaque, 2010). Existem mais de 6000 flavonoides quimicamente diferenciáveis presentes naturalmente nas plantas (Beecher, 1999; Peterson e Dwyer, 1998). Os flavonoides estão presentes em uma grande variedade de plantas comestíveis, especialmente em espécies cítricas, sendo que estas acumulam quantidades consideráveis de flavonóides durante os diferentes estágios de desenvolvimento (Senevirathne *et al.*, 2009). Eles participam de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos (Dixon e Harrison, 1990) e estão concentrados em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores (Feldmann, 2001). Flavonóides cítricos estão presentes, principalmente, nas cascas dos frutos (Nagy *et al.*, 1977).

Os flavonoides pertencem ao grupo dos compostos polifenólicos, caracterizados por possuírem em comum a estrutura do benzo-γ-pirano, responsável por atuar como antioxidante em sistemas biológicos (Senevirathne *et al.*, 2009).

Flavonoides possuem uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos (A e B) unidos por três átomos de carbono formando um heterociclo oxigenado (anel C) (Figura 2.5) (Balasundram *et al.*, 2006; Manach *et al.*, 2004; Scalbert e Williamson, 2000). Devido a esta estrutura, os flavonoides apresentam intensa absorção no UV, exibindo duas bandas: banda I em 300-380 nm e banda II em 240-280 nm (Mabry *et al.*, 1970).



Figura 2.5 - Estrutura genérica das moléculas dos flavonoides (Balasundram *et al.*, 2006).

O anel aromático A é derivado da via metabólica do acetato/malonato, enquanto que o anel B é derivado da fenilalanina através da via metabólica do shikimato (Balasundram *et al.*, 2006). Além disso, a estrutura básica dos flavonóides permite diferentes padrões de substituição nos anéis aromáticos A e B dentro de cada classe de flavonoides como, por exemplo, hidroxilas fenólicas, açúcares, grupos metóxi, sulfatos ou glucoronídeos (Hollman e Katan, 1999). De acordo com o grau de oxidação do heterociclo (anel C), os flavonoides estão divididos nas classes flavonas, flavonóis, isoflavonas, antocianinas, flavanonas e flavanóis, (Manach *et al.*, 2004; Scalbert e Williamson, 2000).

Os flavonoides são os polifenóis mais abundantes na dieta humana (Scalbert e Williamson, 2000), apresentando estrutura química com potencial contra os radicais livres e se mostrando mais eficazes antioxidantes *in vitro* do que as vitaminas E e C (Rice-Evans *et al.*, 1997). Os flavonoides apresentam atividade antioxidante de diversas formas: atividades antiradical (-OH), antilipoperoxidação (R-, ROO-, RO-) e quelante de metais. Os flavonoides são potenciais antioxidantes contra a ação de radicais livres, atuando como doadores de hidrogênio (Senevirathne *et al.*, 2009).

A natureza química dos flavonoides depende de sua classe estrutural; grau de hidroxilação e substituição, conjugação e grau de polimerização (Rice Evans *et al.*, 1996). Três grupos estruturais são importantes para avaliar acapacidade antioxidantede flavonoides (Bors *et al.*, 1990a,b): primeiro é a estrutura ortodihidroxi no anel B, a qual participou do deslocamento do hidrogênio; segundo é a dupla ligação 2,3 conjugada com uma função de 4-oxi, responsável pelo deslocamento de elétrons do anel B e; terceiro são os grupos hidroxi 3 (a) e 5 (b).

Nas frutas cítricas, os flavonoides são identificados como flavanonas, flavonas e flavonas altamente metoxiladas, também conhecidas como polimetoxiladas (PMF) (Isaque, 2010). São substâncias de ocorrência única em frutos cítricos, sendo relativamente rara a presença em outras plantas (Li *et al.*, 2004). As polimetoxiflavonas estão localizadas, principalmente, no flavedo dos frutos (Rouseff e Ting, 1979; Gaydou *et al.*, 1987; Sendra *et al.*, 1988). Enquanto os flavonoides em cítricos ocorrem, comumente, como glicosídeos, as flavonas polimetoxiladas são uma exceção: elas ocorrem como agliconas livres (Middleton e Kaudeswami, 1994; Attaway *et al.*, 1994). A Figura 2.6 apresenta os principais flavonoides cítricos.



Figura 2.6 - Esquema dos principais flavonóides cítricos (Isaque, 2010).

Teste biológico mostrou que PMF's possuem ações anticancerígenas, antiinflamatórias (Manthey *et al.*, 2001; Benavente-Garcia *et al.*, 1997; Manthey *et al.*, 1999), antialérgicas, antivirais, vasodilatadoras (Middleton e Kandaswami, 1986; Evers *et al.*, 2005; Harborne e Williams, 2000; Padilla *et al.*,2005), antimicrobianas (Huet, 1982) bem como propriedades que reduzem os triacilgliceróise o colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) (Kurowska e Manthey, 2004). Numerosos estudos demonstraram que micronutrientes fornecidos por dietas incluindo vários flavonóides podem proteger a LDL de modificações oxidativas (De Whalley *et al.*,1990). Os flavonóides apresentam atividade antiaterosclerótica, inibindo a formação da placa de ateroma nos diversos passos de sua patogênese (Hertog *et al.*, 1993). Witztum e Steinberg (1991) estabeleceram o papel fundamental desempenhado pela LDL oxidada nos estágios inicial e avançado das lesões ateroscleróticas. Essas ações biológicas despertaram o interesse das indústrias alimentícias e nutracêuticas para o uso destes compostos como ingredientes especiais (Manthey, 2006).

Muitos efeitos potencialmente promotores de saúde têm sido atribuídos aos flavonóides cítricos (Middleton e Kaudeswami, 1994; Attaway *et al.*, 1994). Estudos têm observado um efeito protetor dos flavonóides contra doenças cardiovasculares, degenerativas e alguns tipos de câncer (Benavente-Garcia e Castillo, 2008). Tangeritina e nobiletina são os antimutagênicos mais ativos dos flavonóides estudados e podem ter um potencial quimiopreventivo (Calomme *et al.*, 1996).

Além disso, foi relatado que uma mistura de nobiletina e tangeretina regulou o metabolismo da glicose em *hamsters* com resistência à insulina (Li *et al.*, 2006). Lee *et al.* (2010) comprovaram a eficácia da nobiletina ao estudarem os efeitos que a mesma exercia sobre ratos obesos, diabéticos e apresentando resistência à insulina, bem como o possível mecanismo envolvido no processo de metabolismo da glicose.

Casca de laranja representa a fonte mais diversa de flavonóides devido à presença de flavonas polimetoxiladas nobiletina e tangerintina (Londoño-Londoño *et al.*, 2010).

Tangeritina (Figura 2.7), uma pentametoxiflavona, foi isolada a partir do óleo extraído da casca de laranja (Goldsworthy e Robinson, 1937).



Figura 2.7 - Estrutura química do composto tangeritina (Asami et al., 2010).

Nobiletina é uma flavona polimetoxilada (PMF) encontrada em frutas cítricas, tais como *Citrus sinensis* (laranja) e *Citrus lemon* (limão) (Figura 2.8) (Chen *et al.*, 1997; Nagata *et al.*, 2006). As bioatividades de flavonas cítricas polimetoxiladas, tal como a nobiletina foram estudadas. A mesma apresentou atividade imunomodulatória e antiaterogênica (Kurowska e Manthey, 2004).



Figura 2.8 - Estrutura química do composto nobiletina (Asami et al., 2010).

Ao contrário dos flavonóides glicosídicos, as flavonas polimetoxiladas são consideravelmente menos polares e assumem estruturas planares. Estas características das polimetoxiflavonas influenciam suas propriedades biológicas, incluindo sua permeabilidade nas membranas biológicas, destinos metabólicos e propriedades de ligação. Estas propriedades, por sua vez, influenciam os modos de ação das moléculas, que muitas vezes diferem daqueles apresentados pelos flavonóides glicosídicos (Manthey *et al.*, 2001; Hirano *et al.*, 1995; Kawaii *et al.*, 1999a,b; Manthey e Guthrie, 2002).

2.2 SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO

2.2.1 Considerações gerais

Uma etapa importante no desenvolvimento de processos para diversos produtos químicos é sua fabricação, onde para uma classe de produtos químicos termicamente instáveis como fármacos, alimentícios, inseticidas, perfumaria, entre outros, a etapa de purificação desempenha um papel importante (Sales-Cruz e Gani, 2006). Operações a vácuo proporcionam uma diminuição substancial nos pontos de ebulição das substâncias devido à redução da pressão de operação. Esta característica permite a separação de compostos, os quais seriam destruídos se a mistura fosse processada a pressões normais. Evaporação de passo curto pode ser classificada entre as operações a vácuo (Martins *et al.*, 2012c).

A evaporação é uma operação unitária amplamente utilizada em vários campos de processos, incluindo produtos farmacêuticos, alimentos, bebidas, papel e celulose, produtos químicos, polímeros, produtos lácteos, sucos de frutas, entre outros (McCabe *et al.*, 1993).

Evaporação híbrida de passo curto é um processo de separação alternativo com elevado potencial para recuperação e concentração de moléculas termicamente instáveis. Tem sido reconhecida como um método promissor devido à sua baixa temperatura de evaporação e curto tempo de residência, o que minimiza os problemas de decomposição térmica (Martins *et al.*, 2012a; Martins *et al.*, 2012b).

Portanto, evaporação de passo curto é recomendada para aplicações em que os compostos de uma mistura são sensíveis à temperatura e deve ter apenas uma breve exposição ao calor, tal como muitas substâncias naturais utilizadas nas indústrias química, alimentícia e farmacêutica. Além disso, evaporação de passo curto é uma alternativa para substituir aqueles processos que fazem uso de solventes perigosos evitando a geração de grandes fluxos de resíduos, prevenindo a toxicidade dos produtos e reduzindo os problemas de inflamabilidade (Martins *et al.*, 2012c).

2.2.2 Estratégia de separação

Princípio de operação da evaporação de filme baseia-se na separação das substâncias com diferentes temperaturas de ebulição (Martins *et al.*, 2012a). O sistema evaporativo é constituído de um evaporador cilíndrico, um condensador interno localizado concentricamente no evaporador e um condensador externo. Este sistema gera três correntes, são elas: destilado, lateral e resíduo, as quais são recuperadas nas partes inferiores do condensador externo, condensador interno e evaporador, respectivamente (Martins *et al.*, 2012b).

O evaporador de passo curto consiste de um corpo cilíndrico contendo um condensador em seu interior. A solução líquida a ser processada (purificada) é alimentada e chega à parede do evaporador por meio de um sistema de bombeamento adequado. As superfícies de evaporação e de condensação são mantidas a temperaturas constantes. Devido à elevada pressão de vácuo no interior do separador, uma fina película descendente é formada, os perfis de concentração e de temperatura dos compostos mais voláteis diminuem nas direções axial e radial e, o perfil de velocidade comporta-se como um fluxo laminar com uma superfície de película lisa. O curto tempo de residência do líquido no cilindro de evaporação é garantido por meio da distribuição do líquido na forma de uma fina película de consistência uniforme, enquanto que o vácuo elevado reduz a temperatura de destilação. Então, a combinação do pequeno espaço entre o evaporador e o condensador com alto vácuo resulta em um mecanismo de transferência de massa específica. Além disso, com um vapor de destilação unidimensional, moléculas emanam a partir da superfície quente para o condensador refrigerado. Algumas moléculas que saem da superfície do condensador seguem no sentido inverso, ou seja, para o evaporador (Kawala e Stephan, 1989).

De maneira geral, componentes com temperaturas de ebulição mais baixas são evaporados, encontram a superfície refrigerada do condensador e são removidos do sistema na corrente destilado. Componentes que apresentam

maiores temperaturas de ebulição fluem ao longo do evaporador e são recolhidos na corrente resíduo (Martins *et al.*, 2012a).

O processo de evaporação de passo curto (separação) não pode funcionar corretamente se as condições de temperatura na superfície de condensação não permitir a condensação total. Neste caso, processo de condensação se torna o fator limitante em todo o equipamento. Além disso, informações sobre a temperatura do filme formado na superfície de condensação é importante para determinar o rendimento e a pureza do produto destilado, bem como para definir o "layout" do evaporador (por exemplo, a posição de alimentação e a geometria do evaporador) (Sales-Cruz e Gani, 2006).

2.2.3 Uso e aplicações do sistema evaporativo

A literatura apresenta muitas aplicações de destilação molecular, porém são poucos os trabalhos sobre evaporação de passo curto, a qual é realizada no mesmo equipamento (Martins *et al.*, 2012c).

O desenvolvimento de processos para desterpenação do óleo de laranja é uma operação importante para garantir a aplicação industrial deste material. Por não usar solventes orgânicos, apresentando um pequeno tempo de residência e operando a baixas pressões, evaporação de caminho curto é uma alternativa para desterpenar óleo de laranja. No entanto, a determinação das suas condições adequadas de funcionamento não é trivial (Martins *et al.*, 2013).

A avaliação do desempenho e a otimização das condições de funcionamento de um evaporador de passo curto utilizado para concentrar metilchavicol de óleo essencial de manjericão foi estudado por Martins *et al.* (2012c). Este estudo mostrou que é possível aumentar a concentração de metilchavicol no óleo essencial de manjericão removendo a fração da substância mais volátil na corrente destilada.

Cvengroš *et al.* (2000) também estudaram um modo de operação do evaporador de passo curto com um condensador dividido, o qual pode ser utilizado para o fracionamento e reciclagem da corrente destilado.

2.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

Neste capítulo foram apresentados conceitos obtidos da literatura acerca do assunto pertinente a esta tese. Foram abordados conceitos sobre os compostos que se deseja separar e concentrar, tais como limoneno na corrente de destilado e, valenceno e decanal nas correntes lateral e resíduo e, os flavonoides tangeritina e nobiletina encontrados na corrente resíduo.

A literatura apresenta diversos estudos sobre o fracionamento do óleo de laranja envolvendo vários processos, entre eles, a evaporação, porém não há pesquisa sobre a utilização de um sistema híbrido de evaporação, o que permite que esta tese de doutorado contribua para as pesquisas relacionadas ao referido assunto.

CAPÍTULO 3 -MATERIAIS E MÉTODOS

No Capítulo 3, a matéria-prima, as metodologias experimentais e analíticas e o planejamento experimental utilizado na realização deste trabalho são apresentados. Primeiramente, a obtenção e características técnicas da matéria-prima serão apresentadas. Em seguida, a metodologia experimental descreve o equipamento utilizado nos ensaios de evaporação. A terceira parte deste capítulo discorre sobre a caracterização da matéria-prima e as análises cromatográficas adotadas para identificar, separar e quantificar os compostos de interesse (terpenos, oxigenados e flavonóides) obtidos nas correntes resultantes do fracionamento do óleo de laranja. E, por último é abordado o planejamento experimental selecionado na execução dos ensaios de evaporação.

3.1 MATÉRIA-PRIMA

Óleo de laranja doce (*Citrus aurantium dulcis*) foi adquirido da indústria FERQUIMA Ind. e Com. Ltda (São Paulo – Brasil, lote 143), devidamente acondicionado em galões de plástico escuro. O óleo foi armazenado conforme recomendações do fabricante (T_{ambiente}) e, após aberto, para a caracterização da matéria-prima e condução dos ensaios, o mesmo ficou mantido sob refrigeração (~ 4°C) até o término dosensaios experimentais. Na Tabela 3.1 estão apresentadas as especificações comerciais do óleo de laranja doce fornecidas através do laudo técnico pela indústria FERQUIMA Ind. e Com. Ltda.

Tabela 3.1 -	Especificações	comerciais	do	óleo	de	laranja	doce	pela	indústria
FERQUIMA Ir	nd. e Com. Ltda.								

Itens controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido límpido	Líquido límpido
Cor	Laranja	Amarelo a laranja
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Cítrico, doce	Cítrico, doce
Densidade (20°C)	0,841	0,830 – 0,860
Índice de refração (20°C)	1,473	1,465 – 1,485
Principal componente (aproximadamente)	D-limoneno (92%)	-

Para cada planejamento experimental do processo de fracionamento (pressões de 2 e 20 mbar), foi utilizado óleo de laranja obtido do mesmo fabricante e do mesmo lote, porém acondicionado em galões diferentes. Então, foram realizadas caracterizações no óleo utilizado em cada planejamento experimental (pressões de 2 e 20 mbar).

3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.2.1 Sistema híbrido de evaporação

O processo de evaporação, utilizado para separar os flavonóides, os terpenos e os oxigenados presentes no óleo de laranja, foi conduzido em um evaporador de filme agitado, modelo Pope 2" Wiped Film Still, fabricado por Pope Scientific Inc. (Saukville, WI, USA) disponível no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP) (Figura 3.1).



Figura 3.1 - Imagem do equipamento utilizado no sistema híbrido de evaporação utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).

Este equipamento (modelo Pope) foi adaptado por Martins (2011) para trabalhar com óleos "leves", como os óleos essenciais, ou seja, sem a presença de mono, di e triacilgliceróis. As adaptações feitas no evaporador de filme agitado foram conduzidas com o intuito de melhorar o processo de separação (fracionamento). Durante os ensaios preliminares realizados no equipamento (modelo Pope), Martins (2011) adicionou ao equipamento original uma válvula para controle da pressão e uma bomba peristáltica para controle da vazão de alimentação e, um condensador externo, situado entre o *trap* e o evaporador. A válvula para controle da pressão permitiu o aumento da mesma, evitando, assim, que material chegasse ao *trap*. O condensador externo foi acoplado ao sistema a fim de proporcionar mais uma condensação do material volátil antes dos mesmos saírem do evaporador e alcançarem o *trap*. A bomba peristáltica para controlar a alimentação de matéria-prima no sistema foi adicionada para que os ensaios fossem realizados de maneira reprodutível, uma vez que o controle era feito manualmente.

3.2.1.1 Considerações gerais

O evaporador de filme agitado é um sistema constituído por evaporador, condensador interno do evaporador, condensador externo, *trap*, sistemas de alimentação e de coleta das correntes destilado, lateral e resíduo, além das unidades de controle da vazão de alimentação, das temperaturas (evaporador e, condensadores interno e externo através de banhos térmicos), da rotação do evaporador e da pressão de trabalho, conforme observado na Figura 3.1.

As correntes destilado, lateral e resíduo são constituídas em sua maior concentração por terpenos, oxigenados e flavonóides, respectivamente. Os terpenos são compostos mais voláteis, os oxigenados são compostos de massas molares intermediárias entre os voláteis e os flavonóides. Os flavonóides, mais especificamente as polimetoxiflavonas, presentes em maior quantidade no óleo de laranja, constituem a fração mais pesada, pois são moléculas com maiores massas molares.

- Alimentação: originalmente, o equipamento possui um vaso de alimentação dotado de uma válvula com ajuste manual da vazão, porém por se tratar de uma variável importante estudada no processo, houve a necessidade de um maior controle da mesma, portanto foi acoplada no sistema uma bomba peristáltica (Masterflex[®]L/S[®], Modelo 77200-60) para controlar o fluxo da vazão de alimentação.
- 2. Evaporador: onde ocorre a separação das correntes resultantes da evaporação (evaporação propriamente dita), é constituído de uma coluna de vidro dotada externamente de anéis metálicos e manta aquecedora (aquecimento elétrico) para que ocorra a volatilização e posterior separação das substâncias. A temperatura do evaporador é uma variável do processo, a qual foi ajustada por um painel de controle para cada ensaio experimental. A rotação do evaporador foi fixada em 750 rpm através do painel de controle ligado ao sistema.
- 3. Condensador interno: localizado no interior do evaporador, é dotado de uma serpentina de vidro, onde circula etilenoglicol e água através de mangueiras (entrada/saída) de silicone provenientes de um banho termostatizado (Tecnal, TE184) com temperaturas variando de acordo com os ensaios experimentais. O etilenoglicol foi utilizado juntamente com a água no sistema de refrigeração com o objetivo de evitar o congelamento da água circulante.
- 4. Condensador externo: foi adaptado no equipamento original para coletar o material mais volátil (destilado) que antes saía do evaporador e chegava ao *trap*, ou seja, essa corrente contendo os mais voláteis não era coletada nas correntes lateral e resíduo. O material deste condensador é constituído por vidro (cilindro e serpentina). Através de mangueiras (entrada/saída) de silicone acopladas ao condensador, circula etilenoglicol e água oriundos de

um banho termostatizado (Cienlab – SP/Brasil) com temperatura fixa em - 10°C.

- 5. *Trap*: consiste em um tubo de vidro com tampa móvel na parte superior e uma válvula de abertura/fechamento na parte inferior. Nele é adicionado nitrogênio líquido e sua presença no equipamento é para garantir que nenhum material volátil chegue à bomba de vácuo, onde esses voláteis poderiam passar facilmente para o óleo da bomba de vácuo, contaminando-o. Nestas condições, o *trap* funciona como uma segurança a mais no sistema.
- 6. Bomba de vácuo e suas válvulas mecânica e milimétrica: a bomba de vácuo (Edwards AGD, Reino Unido) regula a pressão (mbar ou torr) de trabalho do evaporador de filme agitado. A válvula mecânica é utilizada para fazer o vácuo no sistema e a válvula milimétrica, para fazer um ajuste fino (minucioso) da pressão e, consequentemente, do vácuo. Quando se trabalha com pressões menores, é fundamental o ajuste pela válvula milimétrica para se obter o valor de pressão desejado com precisão.
- Balões de vidro: os balões para coletar as correntes resultantes da evaporação estão acoplados na parte inferior do evaporador e condensador externo.

3.2.2 Descrição do fracionamento do óleo de laranja

Para melhor visualizar como foi realizado cada ensaio do planejamento do processo de evaporação do óleo de laranja, a Figura 3.2 apresenta um fluxograma contendo as etapas desse processo.



Figura 3.2 - Fluxograma das etapas de cada ensaio do processo de evaporação do óleo de laranja.

Antes de ser alimentada no sistema, cerca de 40-100g de matéria-prima foi cuidadosamente pesada dentro de um erlenmeyer utilizando-se uma balança semi-analítica (GEHAKA, BG2000). A pesagem da matéria-prima é necessária para uma posterior avaliação no rendimento do processo de evaporação. A alimentação do sistema consistiu em uma mangueira adicionada no erlenmayer contendo a amostra, a qual entra na parte superior do evaporador. A vazão de alimentação é controlada pela bomba dosadora, porém a temperatura em que a amostra entra no sistema e chega até o evaporador não é controlada (T_{ambiente}). De acordo com o planejamento experimental (item 3.3.4) adotado para o processo em questão, diferentes vazões de alimentação foram estudadas no fracionamento do óleo de laranja.

A matéria-prima, ao chegar ao evaporador, formou um filme uniforme escoando ao longo das paredes internas do mesmo e, em seguida, devido à
diferença de temperaturas entre as paredes do evaporador e condensador interno, ocorreu a volatilização das substâncias. As substâncias mais voláteis saem do evaporador e seguem até o condensador externo, onde foram coletadas, enquanto que as frações intermediárias e residuais foram coletadas nas saídas do próprio evaporador. As diferentes temperaturas utilizadas nos ensaios de evaporação do óleo de laranja (evaporador e condensadores interno e externo) são apresentadas no item 3.3.4, o qual descreve o planejamento experimental selecionado para este estudo.

Antes da execução de cada ensaio experimental, os balões coletores das frações resultantes do processo foram pesados para determinar a massa recolhida em cada corrente. Ao término do ensaio, cada balão foi devidamente desacoplado do sistema e pesado para, posteriormente, cada corrente ser transferida para os porta-amostras, as quais permaneceram fechadas sob refrigeração (~ 4°C) até o momento de sua preparação para as análises cromatográficas. A pesagem

A partir da quantidade de amostra alimentada inicialmente e das quantidades das correntes resultantes, pode-se calcular o percentual de lateral, destilado e resíduo obtidos após o processo de evaporação. Através do balanço de massa (Equação 3.1), foram calculadas as eventuais perdas sofridas ao longo do processo.

$$X_{MP}$$
 . $M_{MP} = X_D$. $M_D + X_L$. $M_L + X_R$. M_R (Equação 3.1)

Onde X_{MP} , X_D , X_L e X_R são as concentrações de matéria-prima, destilado, lateral e resíduo, respectivamente. M_{MP} , M_D , M_L e M_R correspondem às massas de matéria-prima, destilado, lateral e resíduo, respectivamente.

Uma etapa muito importante entre um ensaio e outro foi a limpeza do equipamento, pois o óleo de laranja é constituído de uma fração pesada (corrente resíduo), a qual, dependendo da temperatura de trabalho, apresenta ser bastante viscosa. Devido à dificuldade no escoamento dessa fração, percebeu-se que material ficava aderido às paredes internas do equipamento, o que impossibilitava

a condução de um próximo ensaio, além de ocorrer maiores perdas de matériaprima, afetando assim o balanço global de massa.

A lavagem do equipamento foi realizada com solventes (álcool etílico, água destilada e acetona) para a remoção do material incrustado no equipamento. Após a lavagem com os solventes citados acima, o equipamento permaneceu por aproximadamente 30 a 60 min com as válvulas abertas e sem os balões coletores para a evaporação completa dos solventes.

3.3 METODOLOGIA ANALÍTICA

3.3.1 Caracterização da matéria-prima

A caracterização do óleo de laranja consistiu na determinação da sua viscosidade e densidade. As medidas foram feitas em equipamento Anton Paar Stabinger Viscometer, modelo SVM 3000 (Austria - Europe) à temperatura de 20°C. As análises foram realizadas em duplicata.

Também foi realizada a quantificação das concentrações de limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobilitina presentes originalmente na matériaprima. As análises foram conduzidas de acordo com as metodologias descritas nos itens 3.3.2 (limoneno, valenceno e decanal – cromatografia gasosa) e 3.3.4 (tangeritina e nobilitina – cromatografia líquida de alta eficiência).

As propriedades ponto de fusão e massa molar dos compostos limoneno, valenceno e decanal são apresentadas no Quadro 3.1. Essas propriedades serão necessárias para comparação entre os compostos e para justificar a presença de um determinado componente em uma das correntes resultantes do processo.

	Limoneno	Valenceno	Decanal
Ponto de ebulição (°C) (1 atm)	175,5 - 176	270,5	207 – 209
Massa molecular (g/gmol)	138	204,35	156,2

3.3.2 Cromatografia Gasosa (CG) – Análise dos terpenos e oxigenados

A Cromatografia Gasosa (CG) é uma técnica com um poder de resolução excelente, tornando possível, muitas vezes, a análise de dezenas de substâncias de uma mesma amostra. A separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa). O uso de temperaturas convenientes no injetor e na coluna possibilita a vaporização dessas substâncias que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas por tempos determinados e chegam à saída da coluna em tempos diferentes. O uso de um detector adequado na saída da coluna torna possível a detecção e quantificação dessas substâncias (Collins *et al.*, 2006).

A identificação, separação e quantificação dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de laranja foi realizada utilizando-se a técnica de Cromatografia Gasosa (CG) em equipamento pertencente ao Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).

3.3.2.1 Preparação das amostras

Com auxílio de uma balança analítica (GEHAKA, AG200), aproximadamente 0,03g de amostra, 100 μ L de butóxi-butano e 6 μ L *n*-hexanal foram pesados dentro de um frasco de vidro âmbar e, posteriormente, solubilizados em 5 mL de acetato de etila. Em seguida, uma alíquota desta solução de amostra foi transferida para *vials*, os quais permaneceram sob refrigeração (~ 4°C) até o momento da injeção no cromatógrafo gasoso.

3.3.2.2 Descrição do método

A condução das análises foi realizada em cromatógrafo gasoso Agilent – 6850 acoplado a um detector de ionização de chamas (Figura 3.3), utilizando-se uma coluna capilar modelo BP-225 (SGE) contendo cianopropilfenil-50%-

dimetilpolisiloxano, com dimensões de: 25 m de comprimento, 320 μ m de diâmetro interno e 0,25 μ m de filme interno. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste. 1 μ L de amostra foi injetado. As condições do método estão descritas abaixo:

Injetor: Temperatura – 250°C; Pressão – 4,01 psi; Split – 20:1
Detector: Temperatura – 350°C; Fluxo de H₂ – 40 mL/min; Fluxo de ar sintético – 400 mL/min; Fluxo de N₂ (make up + coluna) – 30 mL/min
Programação do Fluxo (H₂):1,0 mL/min por 16,0 min; 3,0 mL/min a 10 mL.min⁻²
Programação da temperatura do forno:40°C por 5 min; 140°C a10°C/min; 220°C por 2 min; a 45°C/min. *Post Run*: 255°C por 5 min.



Figura 3.3 - Imagem do cromatógrafo gasoso Agilent utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).

3.3.2.3 Identificação e quantificação dos terpenos e oxigenados

Padrões de limoneno (pureza 97%; Acros Organics), epóxidos de limoneno (pureza 99%;Sigma-Aldrich), decanal (pureza ≥ 98%;Sigma-Aldrich) e valenceno (pureza 65%; Sigma-Aldrich) foram utilizados na identificação desses compostos nas amostras a serem analisadas e na construção das curvas de calibração.

Primeiramente, foram preparadas soluções de cada padrão, que consistiu na diluição dos mesmos em acetato de etila. Em seguida, essas soluções foram injetadas, separadamente, no cromatógrafo gasoso para o conhecimento dos seus tempos de retenção. A identificação dos compostos presentes nas amostras analisadas foi feita pela comparação dos seus tempos de retenção com os tempos de retenção de cada composto padrão identificado.

A quantificação de limoneno, *cis* e *trans* epóxido de limoneno, decanal e valenceno foram realizadas através de curvas de calibração com padronização interna, sendo butoxi-butano utilizado como padrão interno para o limoneno e hexanal para os demais compostos.

As curvas de calibração foram construídas a partir de soluções com cinco diferentes concentrações de terpenos e oxigenados, as quais variaram de 0,12 a 0,66 mMol (para limoneno), 0,01 a 0,07 mMol (para valenceno) e 0,01 a 0,10 mMol (para decanal e epóxidos de limoneno). A concentração dos compostos foi calculada pela integração da área do pico correspondente a cada composto e, posteriormente, pela equação da reta resultante das curvas de calibração. A Figura 3.4 apresenta os gráficos construídos a partir das curvas de calibração de cada composto analisado.



Figura 3.4 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para limoneno (A), epóxidos de limoneno (B), decanal (C) e valenceno (D).

3.3.3 Espectrofotometria UV-Visível dos padrões dos compostos

Esta análise espectrofotométrica foi realizada para conhecer a região onde os flavonoides absorvem mais e com a menor interferência dos demais compostos estudados no óleo de laranja para, posteriormente, desenvolver um método de separação e quantificação desses flavonoides. A fim de conhecer em que comprimento de onda os flavonóides possuem absorção máxima, uma varredura espectrofotométrica na região entre o Ultravioleta e o Visível foi conduzida com auxílio do equipamento Espectrofotômetro UV-Vís (Varian – Cary 1G), disponível no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (LRAC – FEQ/UNICAMP). Soluções de cada composto foram preparadas utilizando-se os padrões específicos (citados nos itens 3.3.2.3 e 3.3.3.4) solubilizados na fase móvel (solução de ácido acético 4% em água:acetonitrila – 50:50 v/v) em concentrações variando de 20 a 52 ppm. A leitura no espectrofotômetro foi feita adicionando a solução em cubetas de quartzo com caminho ótico correspondente a 1 cm.

Os espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno estão apresentados na Figura 3.5.



Figura 3.5 - Espectros de absorção dos compostos tangeritina, nobiletina, nariginina, hesperidina, limoneno e valenceno.

Conforme observado na Figura 3.5, os comprimentos de onda nos quais os flavonóides tangeritina e nobiletina apresentaram absorção máxima com menor interferência dos demais compostos foram 285 e 330 nm. Esses comprimentos foram os adotados no método cromatográfico descrito no item 3.3.4.2

3.3.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) – Análise dos flavonóides

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é um importante membro de toda uma família de técnicas de separação, uma vez que consegue separar misturas que contêm um grande número de compostos similares. É um tipo de cromatografia que emprega colunas recheadas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel, eluída sob altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e detectabilidade (Collins *et al.*, 2006).

A separação e quantificação dos flavonóides presentes no óleo essencial de laranja foi realizada utilizando-se a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em equipamento pertencente ao Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).

3.3.4.1 Preparação da fase móvel e das amostras

A fase móvel desempenha um papel muito importante em CLAE, pois sua composição é fundamental no processo de separação exercendo as funções de arrastar os componentes da amostra através do sistema cromatográfico e de participar do processo de separação. A preparação da fase móvel foi realizada da seguinte forma: inicialmente, foi preparada a solução 4% de ácido acético em água milli-Q, após a solubilização do ácido na água, a solução foi adicionada em acetonitrila na proporção 50:50 (v/v). Em seguida, a fase móvel foi filtrada (filtro

em PTFE modificado de diâmetro de poro igual a 0,45μm - Millipore) sob vácuo (Prismatec, 131 – 2VC) utilizando-se banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner, USC2800). A Figura 3.6 mostra o sistema de filtração da fase móvel.



Figura 3.6 - Sistema de filtração da fase móvel utilizada na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Amostras antes de serem injetadas no cromatógrafo líquido precisam passar por uma preparação prévia como solubilizá-las na fase móvel (ou com um solvente mais fraco que a fase móvel) para que não possa ocorrer o alargamento e distorção dos picos e filtrá-las para evitar que partículas sólidas venham a entupir o filtro da entrada da coluna ou danificar o rotor da válvula de injeção. A preparação das mesmas consistiu na pesagem de aproximadamente 0,03 g de amostra em balança analítica (GEHAKA, AG200) dentro de um frasco de vidro âmbar, onde essa quantidade de amostra foi solubilizada em 5 mL de fase móvel (solução de ácido acético 4% em água:acetonitrila – 50:50 v/v). Em seguida, uma alíquota de solução de amostra foi transferida para uma seringa de plástico onde foi filtrada utilizando-se filtro Millipore (membrana de PVDF, 0,45µm de poro, 13 mm de diâmetro) e acondicionada em vials devidamente fechados. Essas amostras ficaram sob refrigeração (~ 4°C) até o momento da injeção.

3.3.4.2 Descrição do método

As análises foram conduzidas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters (Milford, EUA), acoplado a um detector UV-Visível (Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector) com leituras em dois comprimentos de onda, 285 e 330 nm e, injetor manual Rheodyne (Waters Delta 600) ajustado para um "loop" 20 µL de amostra (Figura 3.7). Apesar das leituras terem sido realizadas em dois comprimentos de onda, 285 e 330 nm, os resultados expressos foram os lidos a 330 nm. O sistema foi controlado utilizando-se o software Millennium³². Flavonóides foram separados em temperatura ambiente usando o programa de eluição isocrático (Waters 600 Controller). A coluna analítica utilizada foi Kinetex C18 fase reversa (4,6 x 150 mm, 2,6 µm). A fase móvel consistiu em uma mistura de Acetonitrila:Ácido Acético (4%) (50:50 v/v) e o seu fluxo foi de 1,0 mL/min.



Figura 3.7 - Imagem do cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado no Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LDPS – FEQ/UNICAMP).

3.3.4.3 Identificação e quantificação dos flavonóides tangeritina e nobiletina

Para a identificação da presença de tangeritina e nobiletina (matéria-prima e amostras analisadas) e construção das curvas de calibração foram adquiridos padrões de tangeritina (pureza \geq 95%;Sigma-Aldrich) e nobiletina (pureza \geq 95%;Sigma-Aldrich).

Soluções padrão foram preparadas através da diluição de cada flavonóide na fase móvel Acetonitrila:Ácido Acético (4%) (50:50 v/v). Para conhecer os tempos de retenção de cada flavonóide, as soluções foram, individualmente, injetadas no cromatógrafo líquido de alta eficiência. A identificação dos compostos foi feita pela comparação dos seus tempos de retenção com os tempos de retenção de cada padrão de flavonóide identificado.

As curvas de calibração foram construídas a partir de soluções com seis diferentes concentrações, as quais variaram de 2 a 100 µg/mL (tangeritina) e de 2,1 a 105 µg/mL (nobiletina). Através dos cromatogramas obtidos, foram traçados os gráficos dos valores de área medidos em função da concentração de tangeritina e nobiletina (Figura 3.8). A concentração dos compostos foi calculada pela integração da área do pico correspondente a cada flavonóide (tangeritina e nobiletina) e, posteriormente, pela equação da reta resultante das curvas de calibração.



Figura 3.8 - Representação gráfica das curvas de calibração construídas para tangeritina (A) e nobiletina (B).

3.3.4 Planejamento experimental utilizado nos ensaios de evaporação – composto central ou do tipo estrela

O procedimento tradicional para otimização de forma univariada, onde cada fator é avaliado separadamente, envolve um grande número de experimentos e não fornece informações de como cada fator se comporta frente aos demais. A forma mais eficiente de se extrair uma maior quantidade de informações sobre um determinado sistema com um número mínimo de ensaios é a utilização de ferramentas estatísticas de planejamento de experimentos. Na prática isso significa diminuição de horas trabalhadas, de gastos com reagentes e mais agilidade no desenvolvimento de novos produtos, processos ou métodos (Barros *et al.*, 2001).

Os planejamentos compostos centrais (CCD) foram apresentados por Box e Wilson (1951) como uma evolução dos planejamentos 3³, que necessitavam de muitos experimentos para um pequeno número de fatores, mesmo para planejamentos fracionários (Teófilo e Ferreira, 2006).

O planejamento empregado nesse trabalho foi do tipo composto central (ou estrela) com pontos axiais, utilizando 3 fatores e uma quadruplicata no ponto central, totalizando 18 ensaios realizados em ordem aleatória. Este planejamento baseia-se na Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), a qual possibilita identificar o ponto ótimo do processo de evaporação do óleo de laranja. O ponto ótimo do planejamento é aquele ensaio onde é obtido a melhor concentração dos compostos desejados.

Na execução do processo, foram utilizadas duas pressões diferentes, 2 e 20 mbar, porém as condições experimentais para as duas pressões trabalhadas foram as mesmas. A Tabela 3.2 apresenta as condições experimentais adotadas para os ensaios realizados a pressões de 2 e 20 mbar nos ensaios de evaporação do óleo de laranja.

Ensaios	Variáveis	s codificadas	(2 e 20 mbar)	Variáv	Variáveis reais (2 e 20 mbar)		
	X ₁	X ₂	X ₃	T _{evap}	T _{cond}	Vazão	
				(°C)	(°C)	(mL/min)	
1	-1	-1	-1	50	-5	10	
2	-1	-1	+1	50	-5	16	
3	-1	+1	-1	50	5	10	
4	-1	+1	+1	50	5	16	
5	+1	-1	-1	120	-5	10	
6	+1	-1	+1	120	-5	16	
7	+1	+1	-1	120	5	10	
8	+1	+1	+1	120	5	16	
9	-α	0	0	26,2	0	13	
10	+α	0	0	143,8	0	13	
11	0	-α	0	85	-8,4	13	
12	0	+α	0	85	+8,4	13	
13	0	0	- α	85	0	8	
14	0	0	+α	85	0	18	
15 (C)	0	0	0	85	0	13	
16 (C)	0	0	0	85	0	13	
17 (C)	0	0	0	85	0	13	
18 (C)	0	0	0	85	0	13	

Tabela 3.2 - Condições experimentais (pressões de 2 e 20 mbar) dos ensaios de evaporação do óleo essencial de laranja.

Os fatores, os quais também podem ser denominados de "variáveis de entrada ou variáveis independentes", foram a temperatura do evaporador (T_{evap}), temperatura do condensador (T_{cond}) e vazão de alimentação (Q). As temperaturas foram estudadas em °C e a vazão, em mL/min. A seleção das variáveis estudadas e seus limites, assim como as pressões de trabalho, foi feita com base em estudos exploratórios realizados por Martins *et al.* (2013).

As variáveis de resposta foram os percentuais calculados no rendimento do processo e as concentrações mássicas (%) dos compostos desejados (limoneno, epóxidos de limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobiletina) nas frações obtidas do processo de evaporação do óleo de laranja.

Para montar a matriz de planejamento, as variáveis reais foram descritas de forma codificada, onde os níveis inferiores (-1) e superiores (+1) correspondem aos menores e maiores valores, respectivamente, de temperatura (evaporador e condensador) e vazão de alimentação. Os níveis intermediários (0) estão

relacionados à média dos valores correspondentes aos níveis inferiores e superiores como apresentado na Tabela 3.2.

Os pontos axiais estão situados nos eixos do sistema de coordenadas a uma distância codificada de $\pm 1,68$ ($\pm \alpha$) do centro do delineamento e formam a parte estrela do planejamento. Esses pontos medem a possibilidade da não linearidade nos valores obtidos de terpenos, oxigenados e flavonóides em função dos fatores (variáveis independentes). Os pontos centrais são uma estimativa do erro experimental.

Os resultados obtidos nos ensaios dos planejamentos experimentais foram avaliados com auxílio do *software* STATISTICA Release 7.0 (Statsoft Inc.), onde foi possível variar simultaneamente os três níveis de todas as variáveis.

O modelo matemático determinado foi testado para falta de ajuste fazendo teste F (distribuição de Fischer) e calculando o coeficiente de regressão (R^2) através da Análise de Variância (ANOVA) em nível de significância de 90% ($p \le 0,1$).

A razão entre a média quadrática da regressão (MQ_R) e a média quadrática dos resíduos (MQ_r), que nada mais é do que a razão entre duas variâncias, pode ser usada para comparar tais fontes de variação através do teste F, levando em consideração seus respectivos números de graus de liberdade. Esta razão (MQ_R/MQ_r) corresponde ao $F_{calculado}$, o qual será comparado com o $F_{tabelado}$ para o nível de significância de 90%. Para que o modelo seja considerado significativo, o $F_{calculado}$ terá que ser maior que o $F_{tabelado}$.

Um segundo $F_{calculado}$ pode ser obtido pela razão entre a média quadrática da falta de ajuste (MQ_{faj}) e a média quadrática do erro puro (MQ_{ep}). O segundo teste F foi utilizado para avaliar se o modelo está bem ajustado aos resultados experimentais. Da mesma maneira, este $F_{calculado}$ será comparado ao $F_{tabelado}$ para o nível de significância de 90%, porém para que o modelo seja preditivo o $F_{calculado}$ terá que ser menor que o $F_{tabelado}$.

Outro parâmetro para observar se toda variação em torno da média foi explicada pela regressão é o valor do coeficiente de variação R², o qual representa a fração (ou percentual) da variação que é explicada pela falta de

ajuste do modelo. Quanto mais próximo de 1 (ou 100%) for o valor de R², melhor estará o ajuste do modelo aos resultados experimentais.

Para a construção do modelo estatístico foram utilizadas apenas as variáveis significativas ($p \le 0,1$), encontradas a partir da regressão estatística. Logo, a ANOVA permitiu avaliar se o modelo estatístico reproduz os resultados experimentais do processo de evaporação do óleo de laranja dentro da faixa de estudo.

A Metodologia de Superfície de Resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos empíricos que geralmente empregam funções polinomiais lineares ou quadráticas para descrever o sistema estudado e, consequentemente, dão condições de explorar (modelar e deslocar) o sistema até sua otimização (Teófilo e Ferreira, 2006).

Uma vez que os modelos sejam válidos, pode-se conhecer o efeito dos fatores estudados sobre as respostas. A relação entre variáveis independentes e dependentes foi representada tridimensionalmente pela superfície de resposta gerada pelos modelos.

3.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Este capítulo foi desenvolvido para apresentar a matéria-prima utilizada nesta pesquisa e estabelecer as metodologias das análises cromatográficas aplicadas para separar e quantificar os biocompostos de interesse. As descrições das etapas do processo de evaporação, bem como as dos constituintes que fazem parte do sistema híbrido de evaporação foram apresentadas como metodologia experimental. O planejamento experimental adotado para a execução do processo de evaporação do úleo de laranja através de um sistema híbrido de evaporação permite a realização de um número menor de ensaios experimentais e a obtenção de resultados contendo um maior número de informações sobre o processo empregado.

CAPÍTULO 4 -CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA -PRIMA

O Capítulo 4 está dividido em duas partes. Fazendo parte da caracterização do óleo, primeiro, são apresentadas as quantidades de terpenos, oxigenados e flavonoides presentes originalmente na matéria-prima. Em seguida, as medidas físicas de densidade e viscosidade do óleo de laranja doce são realizadas. Diante da diversidade de compostos presentes no óleo de laranja, a identificação e quantificação foram feitas apenas para os compostos estudados neste trabalho. A caracterização físico-química do óleo de laranja e a definição de metodologias para as análises cromatográficas são etapas essenciais para a avaliação do processo de fracionamento.

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE LARANJA DOCE

Para cada planejamento experimental (2 e 20 mbar) foi utilizado óleo de laranja acondicionado em embalagens diferentes, porém proveniente do mesmo fabricante e do mesmo lote. Diante disso, as caracterizações química e física foram feitas para o óleo submetido ao processo de evaporação a 2 e a 20 mbar.

Primeiramente, o óleo de laranja foi submetido à caracterização química para uma posterior comparação entre o óleo de laranja e as correntes obtidas após o fracionamento deste óleo, com intuito de verificar o quanto os compostos estudados (limoneno, valenceno, decanal, tangeritina e nobiletina) foram concentrados e avaliar o processo de fracionamento desse óleo. A composição química expressa em percentual mássico do óleo de laranja doce está apresentada na Tabela 4.1.

Compostos	2 mbar (%)	20 mbar (%)	Desvio padrão (±)
Terpenos			
Limoneno	89,75	98,39	6,11
Epóxidos <i>cis</i> e <i>trans</i>	0,59	0,65	0,04
Valenceno	-	-	
Oxigenado			
Decanal	0,63	0,70	0,05
Flavonoides			
Tangeritina	0,12	0,15	0,02
Nobiletina	0,01	0,01	0,00
Soma	91,1	99,9	6,22
Outros	8,9	0,1	6,22

Tabela 4.1 - Composição química do óleo de laranja doce utilizado no processo de fracionamento a pressões de 2 e 20 mbar.

As Figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 apresentam os perfis cromatográficos para o óleo de laranja doce utilizado nos planejamentos experimentais do processo de evaporação a 2 e 20 mbar com as substâncias identificadas em cada pico.



Figura 4.1 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 2 mbar.



Figura 4.2 - Perfil cromatográfico dos terpenos e oxigenados presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 20 mbar.



Figura 4.3 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 2 mbar.



Figura 4.4 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no óleo de laranja doce utilizado no planejamento experimental a 20 mbar.

Ao analisar a Tabela 4.1, observa-se que o composto limoneno é o principal constituinte presente no óleo de laranja doce. Em seguida, aparece o decanal, representante dos oxigenados, com 0,63-0,70%. Como apresentado em diversos trabalhos publicados na literatura, óleo de laranja apresenta outros compostos tais como linolol, mirceno, octanal, α -pineno, geranial, entre outros.

O composto valenceno não foi identificado no óleo de laranja doce estudado devido à sua quantidade estar diluída no óleo, ficando abaixo do limite de detecção do cromatógrafo gasoso. Porém, como será apresentado no Capítulo 7, o mesmo será concentrado em alguns ensaios do processo de evaporação.

Conforme visualizado na Tabela 4.1, a diferença entre as concentrações de um mesmo composto proveniente do mesmo óleo de laranja, pode ser justificada pela degradação dos compostos, ao armazenamento, à volatilidade dos compostos e a metodologia adotada para quantificá-los (diferente da metodologia adotada pelo fornecedor).

Elston *et al.* (2005) encontraram valenceno em quatro óleos de laranja comerciais com concentrações variando de 54,2 a 68,4 μ g/g. Estes valores estão de acordo com os apresentados por Sharon-Asa *et al.* (2003), os quais encontraram níveis de valenceno em torno de 60 μ g/g.

Os epóxidos de limoneno foram quantificados para verificar a degradação, pela ação do oxigênio, do composto limoneno. A quantidade de epóxidos (\leq 1%) presente no óleo indica que o mesmo não sofreu oxidação elevada, resultado de seu bom processamento e armazenamento. Óleo de laranja estudado por Espina *et al.* (2011) continha óxido de cis-limoneno em quantidades superiores a 1%.

Estudo realizado por Benelli (2010) identificou a presença de D-limoneno e decanal no óleo comercial de laranja (*Cold pressed oil*). No estudo de Mira *et al.* (1996), foi realizada a extração de óleo de casca de laranja com CO₂ supercrítico e, dentre os compostos identificados, estão o decanal, valenceno e D-limoneno. Além disso, os autores relatam a coloração amarela intensa do extrato, indicando a possível presença de compostos flavonóides e/ou carotenóides.

Ferhat *et al.* (2006) extraíram óleo de casca de laranja (Citrus sinensis L. Osbeck) através de destilação por microondas, onde encontraram valores de

76,7% para o limoneno, valor este inferior aos 96,3% encontrado por Hosni *et al.* (2010) quando estudaram a composição química dos óleos da casca de sete espécies de frutas cítricas.

Análise quantitativa dos compostos presentes no óleo de laranja indicou a presença de 85,5% de limoneno, 0,43% de decanal, 0,34% de valenceno e 13,73% de outras substâncias constituintes do óleo de laranja (Espina *et al.*, 2011). As diferenças entre os valores dos compostos apresentados neste trabalho e os encontrados por diversos autores estão relacionadas a fatores diversos, tais como ambiental, condições de extração, variabilidade genética, entre outros.

Quanto à presença de flavonoides, representados por tangeritina e nobiletina, observa-se que a tangeritina está presente em maiores quantidades que a nobiletina (Tabela 4.1), condição esta semelhante à apresentada por Dandan *et al.* (2007) que identificaram polimetoxiflavonas presentes na casca de tangerina verde. Entre elas, tangeritina e nobiletina apresentaram as quantidades mais elevadas, 45,6% e 40,5%, respectivamente.

Em contrapartida, autores como Mouly et al. (1998) e Li et al. (2007) encontraram valores mais elevados de nobiletina guando comparados com os de tangeritina. Mouly et al. (1998) encontraram valores médios de 2,9 mg/L para nobiletina e 0,61 mg/L para tangeritina em suco de laranja quando apresentaram um método que permite separar e quantificar simultaneamente compostos presentes em duas famílias de flavonóides: flavanonas glicosiladas e flavonas polimetoxiladas. Li et al. (2007) descreveram um método recém desenvolvido para um isolamento eficiente e em grande escala de quatro polimetoxiflavonas presentes no óleo da casca de laranja doce (Citrus sinensis) empregando a cromatografia 3,5,6,7,8,3',4'supercrítica: nobiletina. tangeretina, heptametoxiflavona e 5,6,7,4'-tetrametoxiflavona. Através deste método, os autores conseguiram isolar 35,8% de tangeritina e 50,8% de nobiletina.

Senevirathne *et al.* (2009), estudando a capacidade antioxidante de subprodutos cítricos, observaram que estes subprodutos apresentam quantidades elevadas de flavonas polimetoxiladas, principalmente nobiletina (58,2 mg/100 g) e,

flavanonas. Quantidades consideráveis de tangeritina (8,13 mg/100 g) também foram encontradas.

Assim sendo, a composição química do óleo de laranja utilizado neste estudo está de acordo com o apresentado na literatura.

4.2 VISCOSIDADE E DENSIDADE DO ÓLEO DE LARANJA DOCE

As medidas físicas de viscosidade e densidade do óleo de laranja foram realizadas como um complemento da caracterização do óleo para avaliar seu comportamento durante o processo de evaporação. A Tabela 4.2 mostra a média (correspondente a uma duplicata) e o desvio padrão (DP) das medidas de viscosidade (dinâmica e cinemática) e densidade do óleo de laranja utilizado nesta pesquisa.

Tabela 4.2 - Medidas físicas experimentais do óleo de laranja doce utilizado no processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

	2 m	bar	20 mbar		
	Média	DP	Média	DP	
Viscosidade dinâmica (mPa.s)	1,0426	± 0,0003	1,0462	± 0,0000	
Viscosidade cinemática (m²/s)	1,2331	± 0,0001	1,2370	± 0,0004	
Densidade (g/cm ³)	0,8455	± 0,0001	0,8458	± 0,0002	

De acordo com o observado na Tabela 4.2, não houve diferença significativa entre os valores medidos para o óleo utilizado nos experimentos a 2 mbar e a 20 mbar para as propriedades físicas estudadas (densidade e viscosidade).

Os resultados de viscosidade e densidade apresentaram valores próximos aos valores obtidos por outros autores. Por exemplo, Comelli *et al.* (2001) encontraram valores de 0,846 mPa.s para a viscosidade dinâmica e 0,839 g/cm³ para a densidade de limoneno padrão comercial com aproximadamente 97% de pureza. Como já foi mostrado, o óleo de laranja é uma mistura complexa formada por centenas de substâncias, porém seu componente majoritário é o limoneno (>

95%), então, essas propriedades físicas (viscosidade e densidade) do óleo de laranja se aproximam das do componente limoneno.

Oleo bruto de tangerina estudado por Gelsleister *et al.* (2012), com método de obtenção e características semelhantes às do óleo de laranja doce, apresentou valor de 0,851 g/cm³ para a densidade a 22°C (\pm 0,001).

Qualquer que seja a forma de obtenção ou emprego dos óleos essenciais, o conhecimento de propriedades físicas, tais como a massa específica, temperaturas de mudança de fase e viscosidade são de fundamental importância para a consecução das etapas de projeto de equipamentos e de processos (Brock *et al.*, 2008). Em particular para o óleo de laranja, a sua viscosidade não é um problema para a alimentá-lo no sistema, mas sim, da corrente de resíduo, a qual é rica em flavonoides.

4.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

A caracterização físico-química do óleo de laranja é fundamental para uma posterior comparação entre o óleo e as frações obtidas do seu fracionamento e, consequentemente, avaliar as condições operacionais do sistema híbrido de evaporação. Os resultados da caracterização, tanto química quanto física, apresentaram concordância com os encontrados na literatura.

O limoneno, como já esperado, é o componente presente em maior quantidade no óleo de laranja. Os flavonoides encontrados no óleo de laranja servem como indicativo da extração desse óleo por prensagem a frio, uma vez que esses flavonoides são característicos de óleos que possuem uma fração residual em sua composição.

Observa-se que, com as metodologias selecionadas, foi possível a detecção e separação dos compostos de interesse presentes no óleo de laranja.

CAPÍTULO 5 -AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE EVAPORAÇÃO DO ÓLEO DE LARANJA

5.1 INTRODUÇÃO

Este capítulo apresenta a avaliação do rendimento do processo de evaporação do óleo de laranja através de um sistema híbrido de evaporação. O rendimento do processo consistiu de uma análise a fim de verificar se há alguma relação entre as condições operacionais e as perdas do processo de evaporação. Este rendimento foi calculado a partir do balanço de massa das quantidades de amostra alimentada inicialmente e das correntes resultantes (destilado, lateral e resíduo) obtidas após o processo de evaporação.

5.2 BALANÇO DE MASSA

As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam os valores mássicos da alimentação, das correntes resultantes do processo e das perdas de matéria-prima no decorrer do processo nas duas pressões estudadas, 2 e 20 mbar, respectivamente.

Ensaios	M _{alimentação} (g)	M _{destilado} (g)	M _{lateral} (g)	M _{resíduo} (g)	Perdas (%)
1	80,00	19,33	50,56	1,31	12,36
2	80,02	29,58	45,19	1,48	4,94
3	80,01	21,56	52,52	1,89	5,32
4	80,00	33,46	40,72	2,08	4,90
5	200,01	111,20	81,15	2,30	2,73
6	200,01	107,00	85,35	1,78	3,03
7	200,02	123,40	68,34	2,30	3,10
8	200,02	113,50	79,02	1,89	2,91
9	40,00	4,03	15,19	18,6	5,76
10	200,01	131,60	58,97	1,11	4,36
11	150,00	55,69	87,55	1,59	3,57
12	150,01	91,41	51,34	1,86	3,73
13	150,01	63,05	74,92	1,91	7,24
14	150,01	80,90	60,03	2,06	4,91
15 (C)	150,00	72,21	70,16	2,31	3,68
16 (C)	150,00	62,24	81,09	1,89	3,29
17 (C)	150,00	71,59	71,17	1,97	3,64
18 (C)	150,01	69,33	73,06	2,24	3,72
Desvio padrão	-	4,57	4,96	0,20	0,20

Tabela 5.1 - Valores das massas da alimentação, das correntes resultantes do processo e das perdas de matéria-prima a pressão de 2 mbar.

Ensaios	M _{alimentação} (g)	M _{destilado} (g)	M _{lateral} (g)	M _{resíduo} (g)	Perdas (%)
1	40,00	0,50	11,75	23,78	11,02
2	40,02	0,24	8,45	27,73	9,88
3	40,01	1,66	10,74	26,08	3,98
4	40,03	2,28	11,98	23,25	6,72
5	140,01	14,27	116,96	1,92	1,72
6	140,03	19,62	112,56	2,18	4,22
7	140,02	22,27	110,01	2,21	4,11
8	140,07	20,64	110,15	2,13	5,38
9	40,01	0,91	2,11	33,46	9,68
10	140,03	33,36	98,65	1,12	5,18
11	90,02	6,56	75,53	1,98	7,08
12	100,03	6,38	83,28	4,35	6,40
13	100,02	7,45	83,08	1,88	8,24
14	90,10	13,21	69,31	2,88	5,50
15 (C)	90,02	10,10	73,18	1,85	5,74
16 (C)	100,01	10,48	79,92	3,28	6,76
17 (C)	100,02	8,14	82,77	3,14	6,35
18 (C)	100,02	1,67	84,81	8,04	5,82
Desvio padrão	-	4,08	5,07	2,72	0,47

Tabela 5.2 - Valores das massas da alimentação, das correntes resultantes do processo e das perdas de matéria-prima a pressão de 20 mbar.

As quantidades de perdas e o balanço de massa global de cada ensaio experimental foram calculadas através das Equações 5.1 e 5.2.

$$Perdas = (M_{alimentação} - (M_{destilado} + M_{lateral} + M_{resíduo})/M_{alimentação}) \times 100 (Equação 5.1)$$

As perdas de matéria-prima ficaram entre 1,11 e 12,36% da massa inicial, indicando que o sistema híbrido de evaporação é eficiente por apresentar perdas não tão significativas da matéria-prima (óleo de laranja) durante o processo de evaporação.

As perdas de matéria-prima ao longo do processo pode estar relacionada aos problemas (falhas) no sistema evaporativo, como por exemplo, variação na pressão durante a execução do ensaio, material que passou para o *Trap*, entre outros.

5.3 AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO DO SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO

Através do balanço de massa, foram calculadas as eventuais perdas sofridas ao longo do processo. Neste trabalho, rendimento foi definido conforme a Equação 5.3. Os dados experimentais para o cálculo do rendimento do processo foram obtidos a partir dos ensaios executados no planejamento experimental.

Rendimento = 100 - Perdas ((M_{alimentação} - (M_{destilado} + M_{lateral} + M_{resíduo}) / M_{alimentação}) x 100) (Equação 5.3)

A Tabela 5.3 apresenta os valores percentuais do rendimento de cada ensaio do processo de evaporação do óleo de laranja nas pressões trabalhadas (2 e 20 mbar). Os ensaios de 15 a 18 são referentes ao ponto central do planejamento experimental.

Encaioc			O(ml/min)	Rendimento (%)		
LIISalus	levap (C)	cond (C)	G (III/IIII)	2 mbar	20 mbar	
1	50	-5	10	87,64	88,98	
2	50	-5	16	95,06	90,12	
3	50	5	10	94,68	96,02	
4	50	5	16	95,10	93,28	
5	120	-5	10	97,27	98,28	
6	120	-5	16	96,97	95,78	
7	120	5	10	96,90	95,89	
8	120	5	16	97,09	94,62	
9	26,2	0	13	94,24	90,32	
10	143,8	0	13	95,64	94,82	
11	85	-8,4	13	96,43	92,92	
12	85	8,4	13	96,27	93,60	
13	85	0	8	92,76	91,76	
14	85	0	18	95,09	94,50	
15 (C)	85	0	13	96,32	94,26	
16 (C)	85	0	13	96,71	93,24	
17 (C)	85	0	13	96,36	93,65	
18 (C)	85	0	13	96,28	95,50	
Desvio padrão				0,20	0,99	

Tabela 5.3 - Rendimento (%) do processo de evaporação do óleo de laranja realizado a pressões de 2 e 20 mbar.

Como mostrado na Tabela 5.3, os valores percentuais do rendimento obtidos nos ensaios de cada planejamento (2 e 20 mbar) são muito próximos entre si, tendo os desvios padrões de 0,20% para o processo executado a 2 mbar e de 0,99% para o executado a 20 mbar, os quais são considerados baixos, indicando assim a boa reprodutibilidade do processo.

De uma maneira geral, ao compararmos os rendimentos do processo nas pressões estudadas, 2 e 20 mbar, verificou-se que nos ensaios realizados a pressão de 2 mbar, os rendimentos foram maiores (ou seja, menor quantidade de óleo de laranja que ficou aderida no sistema) que os rendimentos dos ensaios realizados a 20 mbar.

Esse comportamento pode ser justificado devido ao fato de que, ao diminuirmos a pressão (consequentemente, aumentando o vácuo do sistema), mais óleo de laranja ou substâncias presentes no óleo são arrastados pelo sistema de vácuo.

A partir do planejamento experimental aplicado, pode-se analisar estatisticamente os resultados de rendimento. A Figura 5.1 apresenta os efeitos das variáveis no processo de evaporação realizado a pressão de 20 mbar em relação ao rendimento considerando um nível de confiança de 99%.



Figura 5.1 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre o rendimento.

Em 99% de confiança, todas as variáveis estudadas foram estatisticamente significativas (p < 0,01) no planejamento utilizando a pressão de 2 mbar. Nos ensaios realizados a 20 mbar, apenas a temperatura do evaporador (linear e quadrática) foi a variável estatisticamente significativa (p < 0,01), mostrando que quanto maior for a temperatura do evaporador, maior será o rendimento do processo.

5.4 CONCLUSÃO PARCIAL

A partir do estudo sobre o rendimento do processo de evaporação, observase que, independente da quantidade dos biocompostos concentrados em cada fração resultante do processo de evaporação, é possível e viável fracionar óleo de laranja utilizando um sistema híbrido de evaporação. O maior rendimento foi obtido no ensaio realizado a pressão de 2 mbar utilizando 120°C como temperatura no evaporador.

CAPÍTULO 6 -CONCENTRAÇÃO DO LIMONENO E SEUS EPÓXIDOS PRESENTES NO ÓLEO DE LARANJA ATRÁVES DO SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO

Este capítulo faz uma abordagem sobre as concentrações do limoneno e seus epóxidos obtidas no fracionamento do óleo de laranja, tendo em vista que um dos objetivo dessa pesquisa é maximizar o componente limoneno nas correntes destilado e lateral.

As concentrações obtidas para o composto limoneno nas correntes destilado, lateral realizadas a pressões de 2 e 20 mbar são apresentadas. Os resultados estão divididos pelas correntes resultantes do processo (destilado, lateral e resíduo). Em seguida, os resultados para os epóxidos *cis* e *trans* do limoneno são expostos.

Vale ressaltar que a etapa de quantificação do composto limoneno e seus epóxidos foi executada em parceria com os pesquisadores Msc. Anderson de Jesus Bonon, Prof^a. Dr^a. Patrícia Fazzio Martins e Dr^a. Paula Sbaite Duarte dos Santos, pertencentes aos Laboratório de Desenvolvimento de Processos de Separação (LPDS) e Laboratório de Otimização de Processo e Controle Avançado (LOPCA) da Faculdade de Engenharia Química (FEQ) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

6.1 LIMONENO

6.1.1 Destilado

Na Tabela 6.1 são apresentadas as concentrações mássicas (em %) de limoneno presentes na corrente destilado provenientes do processo de evaporação conduzido a pressões de 2 e 20 mbar. Os pontos 15, 16, 17 e 18 são uma quadruplicata do ponto central.

				M _{dest}	_{ilado} (g)	Conc má	issica (%)
Ensaios	T _{evap} *	T _{cond} **	Vaz***	2 mbar	20 mbar	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	19,33	0,50	98,79	98,91
2	50	-5	16	29,58	0,24	96,56	95,88
3	50	5	10	21,56	1,66	97,28	95,78
4	50	5	16	33,46	2,28	96,43	95,78
5	120	-5	10	111,20	14,27	97,02	97,21
6	120	-5	16	107,00	19,62	97,72	96,59
7	120	5	10	123,40	22,27	96,35	95,77
8	120	5	16	113,50	20,64	96,56	96,16
9	26,2	0	13	4,03	0,91	94,71	95,87
10	143,8	0	13	131,60	33,36	98,13	96,62
11	85	-8,4	13	55,69	6,56	96,67	96,82
12	85	8,4	13	91,41	6,38	96,41	95,48
13	85	0	8	63,05	7,45	97,62	95,59
14	85	0	18	80,90	13,21	97,40	97,45
15 (C)	85	0	13	72,21	10,10	97,41	97,53
16 (C)	85	0	13	62,24	10,48	96,12	97,10
17 (C)	85	0	13	71,59	8,14	96,43	96,04
18 (C)	85	0	13	69,33	1,67	97,64	96,55
Média	-	-	-	68,84	7,60	96,90	96,81
DP ****	-	-	-	4,57	4,08	0,74	0,65

Tabela 6.1 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de limoneno na corrente destilado obtido do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

*Tevap = Temperatura do evaporador (°C)

**Tcond = Temperatura do condensador (°C)

***Vaz = Vazão de alimentação (mL/min)

****DP = Desvio Padrão

Os resultados apresentados na Tabela 6.1, primeiramente, são comparados entre os ensaios de cada pressão (2 e 20 mbar) e, em seguida, através de um mesmo ensaio para as duas pressões estudadas, considerando assim, as mesmas condições operacionais empregadas no fracionamento do óleo de laranja.

Para pressão de 2 mbar, limoneno teve sua maior concentração em 1,10 vezes e a menor, em 1,05 vezes em relação à matéria-prima (89,75%), indicando que o limoneno foi concentrado, separado e quantificado. Nos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, as concentrações de limoneno foram menores que às presentes originalmente na matéria-prima (98,39%), com exceção do primeiro ensaio (98,91%).

Ao analisar os resultados da Tabela 6.1, verifica-se que, de maneira geral, nos ensaios realizados à pressão de 2 mbar, o limoneno apresentou concentrações maiores que nos ensaios a 20 mbar, exceto nos ensaios 1, 5, 9, 11, 14, 15 e 16. Comportamento este justificado pela diminuição da pressão, uma vez que, ao diminuí-la, mais compostos voláteis são evaporados.

Os desvios padrões para as repetições do ponto central foram baixos (0,74 e 0,65 para 2 e 20 mbar, respectivamente) mostrando que o processo é reprodutível. As quantidades de limoneno obtidas tanto na corrente destilado quanto lateral (a qual será apresentada no item 6.1.2) já eram esperadas, pois nessas correntes estão presentes os compostos mais voláteis do óleo de laranja, como o limoneno.

A obtenção de uma fração composta, majoritariamente, por limoneno, a partir do desenvolvimento de um processo considerado "limpo", ou seja, sem a utilização de solventes orgânicos e sem a degradação das substâncias de interesse, como o limoneno mostrou ser bastante promissora, fazendo com que um dos objetivos dessa pesquisa fosse alcançado. Além da corrente destilado ser uma fração rica em limoneno, este composto apresenta um bom grau de pureza (98,91%), pois não estão presentes outras substâncias como valenceno e decanal (Capítulo 7), tangeritina e nobiletina (Capítulo 8).

A Tabela 6.2 e a Figura 6.1 apresentam os efeitos das variáveis no processo de evaporação realizado a pressões de 20 mbar em relação a concentração de limoneno obtida na corrente destilado considerando um nível de confiança de 90%.

/ 3	Efaile.		1/0)	D	000/	. 000/
	Eleito	Erro puro	l(3)	۲	-90%	+90%
Média	96,42450	0,172076	560,3585	0,000000	96,01954	96,82946
T evap (°C)(L)	0,05950	0,395365	0,1505	0,889918	-0,87093	0,98994
T evap (°C)(Q)	-0,00055	0,003921	-0,1403	0,897332	-0,00978	0,00868
T cond (°C)(L)	-1,06069	0,395365	-2,6828	0,074870	-1,99113	-0,13025
T cond (°C)(Q)	0,01032	0,003921	2,6309	0,078263	0,00109	0,01955
Vazão (mL/min)(L)	-0,33721	0,395365	-0,8529	0,456388	-1,26765	0,59322
Vazão (mL/min)(Q)	0,00354	0,003921	0,9027	0,433230	-0,00569	0,01277
T evap x T cond	0,34020	0,457164	0,7442	0,510771	-0,73567	1,41607
T evap x Vazão	0,69841	0,457164	1,5277	0,224041	-0,37747	1,77428
T cond x Vazão	1,00818	0,457164	2,2053	0,114604	-0,06769	2,08405

Tabela 6.2 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação à concentração de limoneno na corrente de destilado.



Figura 6.1 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente destilado.

Em nível de 90% de confiança, nenhuma das variáveis estudadas foram estatisticamente significativas (p < 0,1) no planejamento utilizando a pressão de 2 mbar, ou seja, as mesmas não diferem entre si. Enquanto que, nos ensaios realizados a 20 mbar, a temperatura do condensador (linear e quadrática) foi a variável estatisticamente significativa (p < 0,1) (Tabela 6.2). Porém, a variável temperatura do condensador apresentou um efeito contrário à concentração de limoneno na corrente de destilado, onde o sinal negativo indica que quanto maior a temperatura do condensador, menos limoneno será concentrado (Figura 6.1).

Na Tabela 6.3 estão apresentados os coeficientes de regressão do modelo no processo de evaporação a 20 mbar. Como observado anteriormente, nem

todas as variáveis foram estatisticamente significativas (p < 0,1), então, para descrever a equação do modelo para a concentração de limoneno na corrente destilado, foram consideradas apenas as variáveis estatisticamente significativas em nível de confiança de 90%.

Tabela 6	6.3 -	Tabela	dos	coe	eficientes	de	regressão	o do	modelo	obtido	para	а
concentra	ação	de limo	neno	na	corrente	de	destilado	no p	rocesso	de eva	ooraçã	ίO
(20 mbar) con	sideranc	lo ap	ena	s os efeito	os e	statisticam	iente	significa	tivos (p	< 0,1)).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	96,51276	0,158182	96,14050	96,88502
T cond (°C)(L)	-0,51591	0,197372	-0,98040	-0,05142
T cond (°C)(Q)	0,00501	0,001957	0,00040	0,00961

A equação do modelo matemático, a qual descreve o processo de evaporação a 20 mbar (Equação 6.1) dentro da faixa de estudo previamente selecionada, está apresentada abaixo.

A forma mais confiável de se avaliar a qualidade do ajuste do modelo é através da análise de variância (ANOVA). Então, para verificar o quanto o modelo matemático (Equação 6.1) gerado representa os dados experimentais do processo de evaporação do limoneno na corrente destilado, análise de variância foi realizada e está apresentada na Tabela 6.4 para a pressão de 20 mbar. A partir da tabela ANOVA gerada pelo software Statistica, pode-se calcular os valores correspondentes ao teste F.

desconsideration of elettos que nationaliti significativos no processo ($p < 0, 1$).								
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F _{tabelado}			
Regressão	3,97	2	1,98	3,19	2,70			
Resíduo	9,34	15	0,63					
Falta de ajuste	8,09	12	0,67	1,61	5,22			
Erro puro	1,25	3	0,42					
Total	13,31	17						
% de variação explicada (R ²)	86,90%							
% máximo de variação explicável	98,83%							

Tabela 6.4 - ANOVA do limoneno na corrente de destilado (20 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

Quanto aos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ foi 1,18 vezes superior ao $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$, menor que o $F_{tabelado}$ (1,61 < 5,22). Isto significa que o modelo não se ajusta bem aos dados experimentais, pois para que o modelo se ajustasse bem aos dados experimentais, o primeiro $F_{calculado}$ teria que ser, pelo menos, 10 vezes maior que o $F_{tabelado}$, porém o mesmo é preditivo.

Dentro do intervalo em que as variáveis independentes foram avaliadas, ou seja, dentro dos limites estabelecidos no planejamento experimental, houve um aumento na concentração de limoneno à medida que a temperatura do condensador interno foi diminuída.

Resumindo, a corrente de destilado apresentou quantidades de limoneno que variaram de 94,71 a 98,79% nos ensaios realizados a 2 mbar e de 95,48 a 98,91% nos ensaios a 20 mbar. Em 90% de significância, nenhuma variável foi significativa nos ensaios a 2 mbar, enquanto que, nos ensaios a 20 mbar, apenas a temperatura do condensador foi significativa. Os maiores valores de limoneno, tanto a 2 quanto a 20 mbar, foram encontrados no ensaio nas seguintes condições: 50°C a temperatura do evaporador, -5°C a temperatura do condensador e 10 mL/min a vazão. Por se tratar de um composto volátil, a maior concentração de limoneno está presente na corrente de destilado e em temperaturas mais baixas.

6.1.2 Lateral

As concentrações (em %) de limoneno presentes na corrente lateral provenientes do processo de evaporação conduzido a pressões de 2 e 20 mbar são apresentadas na Tabela 6.5, sendo os ensaios 15, 16, 17 e 18, uma guadruplicata do ponto central.

Tabela 6.5 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de limoneno na corrente lateral obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

				M _{lateral} (g)		Conc mássica (%)	
Ensaios	T _{evap} *	T _{cond} **	Vaz***	2 mbar	20 mbar	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	50,56	11,75	96,06	97,60
2	50	-5	16	45,19	8,45	96,09	95,11
3	50	5	10	52,52	10,74	95,82	96,21
4	50	5	16	40,72	11,98	97,40	97,29
5	120	-5	10	81,15	116,96	95,61	96,32
6	120	-5	16	85,35	112,56	94,69	96,34
7	120	5	10	68,34	110,01	91,93	97,40
8	120	5	16	79,02	110,15	93,31	94,92
9	26,2	0	13	15,19	2,11	99,48	97,62
10	143,8	0	13	58,97	98,65	89,73	94,10
11	85	-8,4	13	87,55	75,53	95,27	96,14
12	85	8,4	13	51,34	83,28	94,23	96,72
13	85	0	8	74,92	83,08	94,99	97,18
14	85	0	18	60,03	69,31	95,08	96,69
15 (C)	85	0	13	70,16	73,18	95,93	97,48
16 (C)	85	0	13	81,09	79,92	94,78	98,04
17 (C)	85	0	13	71,17	82,77	94,33	97,18
18 (C)	85	0	13	73,06	84,81	94,47	97,39
Média	-	-	-	73,87	80,17	96,06	97,60
DP ****	-	-	-	4,96	5,07	96,09	95,11

*Tevap = Temperatura do evaporador (°C)

**Tcond = Temperatura do condensador (°C)

***Vaz = Vazão de alimentação (mL/min)

****DP = Desvio Padrão

A discussão em torno dos resultados mostrados na Tabela 6.5, primeiramente, são comparados entre os ensaios de cada pressão (2 e 20 mbar) e, em seguida, será feita através da comparação de um mesmo ensaio em ambas
as pressões estudadas, ou seja, considerando as mesmas condições operacionais do fracionamento do óleo de laranja.

Com o comportamento semelhante ao do limoneno concentrado na corrente destilado, o limoneno presente na corrente lateral foi concentrado em todos os ensaios realizados à pressão de 2 mbar, com exceção do décimo ensaio, onde a concentração de limoneno foi semelhante a concentração presente originalmente na matéria-prima (89,75%). Nos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, não foi observada a concentração do limoneno em nenhum dos ensaios (< 98,39%), justificando o que já era esperado e enfatizado anteriormente sobre as pressões trabalhadas, quanto maior a pressão (20 mbar), menor a quantidade de limoneno obtido na corrente lateral.

Na corrente lateral foi encontrado limoneno com a maior concentração mássica, 99,5% (pressão de 2 mbar; temperaturas do evaporador e do condensador de 26,2 e 0°C, respectivamente, e vazão de 13 mL/min), indicando que o sistema utilizado é eficiente.

Conforme observado na corrente destilado, na corrente lateral também encontrou-se uma fração rica em limoneno a partir de um sistema híbrido de evaporação. Esse comportamento indicou que, possivelmente, a matéria-prima alimentada no sistema, não foi evaporada ao chegar no evaporador, por onde passou direto, sendo coletada na corrente de lateral. A corrente lateral foi a que apresentou maiores quantidades de limoneno (99,5%).

As Tabelas 6.6 e 6.7 e as Figuras 6.2 e 6.3 apresentam os efeitos das variáveis no processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar em relação a concentração de limoneno obtida na corrente lateral considerando um nível de confiança de 90%.

109

×	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	95,13562	0,194097	490,1450	0,000000	94,67884	95,59240
T evap (°C)(L)	-3,16266	0,445960	-7,0918	0,005767	-4,21217	-2,11316
T evap (°C)(Q)	0,03025	0,004423	6,8397	0,006396	0,01984	0,04066
T cond (°C)(L)	-0,77090	0,445960	-1,7286	0,182320	-1,82040	0,27861
T cond (°C)(Q)	0,00745	0,004423	1,6853	0,190527	-0,00296	0,01786
Vazão (mL/min)(L)	0,42572	0,445960	0,9546	0,410199	-0,62379	1,47522
Vazão (mL/min)(Q)	-0,00423	0,004423	-0,9556	0,409791	-0,01464	0,00618
T evap x T cond	-1,52954	0,515667	-2,9661	0,059251	-2,74309	-0,31599
T evap x Vazão	-0,29090	0,515667	-0,5641	0,612092	-1,50445	0,92265
T cond x Vazão	0,96122	0,515667	1,8640	0,159190	-0,25233	2,17478

Tabela 6.6 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) em relação à concentração de limoneno na corrente lateral.



Figura 6.2 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente lateral.

/ 3	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	96,75173	0,098216	985,0881	0,000000	96,52059	96,98287
T evap (°C)(L)	-0,49373	0,225663	-2,1879	0,116484	-1,02479	0,03734
T evap (°C)(Q)	0,00437	0,002238	1,9517	0,146028	-0,00090	0,00964
T cond (°C)(L)	0,28194	0,225663	1,2494	0,300125	-0,24913	0,81301
T cond (°C)(Q)	-0,00280	0,002238	-1,2500	0,299934	-0,00807	0,00247
Vazão (mL/min)(L)	-0,83654	0,225663	-3,7071	0,034111	-1,36761	-0,30548
Vazão (mL/min)(Q)	0,00827	0,002238	3,6952	0,034391	0,00300	0,01354
T evap x T cond	-0,28113	0,260936	-1,0774	0,360224	-0,89521	0,33295
T evap x Vazão	-0,26327	0,260936	-1,0089	0,387321	-0,87735	0,35081
T cond x Vazão	0,26500	0,260936	1,0156	0,384614	-0,34908	0,87908

Tabela 6.7 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação à concentração de limoneno na corrente lateral.





No planejamento realizado à pressão de 2 mbar, a variável temperatura do evaporador (linear e quadrática) e a interação entre a temperatura do evaporador e temperatura do condensador foram estatisticamente significativas (p < 0,1) (Tabela 6.6 e Figura 6.2), sendo que os seus efeitos foram contrários, indicando que quanto maior for a temperatura do evaporador, menor a quantidade de limoneno concentrado na corrente lateral à pressão de 2 mbar. O mesmo efeito negativo observa-se para a variável estatisticamente significativa (p < 0,1) nos ensaios realizados a 20 mbar, a vazão de alimentação (linear). Essa afirmação pode ser visualizada na Tabela 6.7 e na Figura 6.3.

Nas Tabelas 6.8 e 6.9 estão apresentados os coeficientes de regressão do modelo, porém nem todas as variáveis foram estatisticamente significativas (p < 0,1). Logo, para descrever a equação do modelo para a concentração de limoneno na corrente lateral no processo de evaporação (2 e 20 mbar), foram consideradas apenas as variáveis estatisticamente significativas em nível de confiança de 90%.

111

Tabela 6.8 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente lateral no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	95,09603	0,178424	94,67613	95,51593
T evap (°C)(L)	-1,58782	0,222630	-2,11175	-1,06389
T evap (°C)(Q)	0,01520	0,002208	0,01000	0,02039
T evap x T cond	-0,76477	0,257833	-1,37154	-0,15799

Tabela 6.9 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente lateral no processo de evaporação (20 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	96,60222	0,090286	96,38975	96,81470
Vazão (°C)(L)	-0,44274	0,112654	-0,70786	-0,17763
Vazão (°C)(Q)	0,00439	0,001117	0,00176	0,00702

As equações dos modelos matemáticos, as quais descrevem o processo de evaporação a 2 e 20 mbar (Equações 6.2 e 6.3, respectivamente) dentro da faixa de estudo previamente selecionada, estão apresentadas abaixo.

 $[Limoneno \ lateral \ 2 \ mbar] = 95,096 - 1,588T_{evap} + 0,015(T_{evap})^2 - 0,765T_{evap}T_{cond} \ (Eq. \ 6.2)$

$$[Limoneno lateral 20 mbar] = 96,602 - 0,443Q + 0,004Q^2$$
(Eq. 6.3)

Através da análise de variância (ANOVA), avalia-se a qualidade do ajuste do modelo. Diante disso, esta análise é feita para verificar o quanto o modelo matemático (Equações 6.2 e 6.3) gerado representa os dados experimentais do processo de evaporação do limoneno na corrente lateral para as respectivas pressões estudadas (2 e 20 mbar) (Tabelas 6.10 e 6.11). A partir destas tabelas, podem-se calcular os valores referentes ao teste F.

de elenee que nue lerum elginite		p100000	(p < 0)	• / •	
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F _{tabelado}
Regressão	60,62	3	20,21	25,64	2,52
Resíduo	11,03	14	0,79		
Falta de ajuste	9,44	11	0,86	1,61	5,22
Erro puro	1,60	3	0,53		
Total	71,65	17			
% de variação explicada (R ²)	84,60%				
% máximo de variação explicável	97,77%				

Tabela 6.10 - ANOVA do limoneno na corrente lateral (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

Para os ensaios realizados a uma pressão de 2 mbar, como mostrado na tabela acima, o valor do primeiro $F_{calculado}$ foi 10,2 vezes maior que $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$ foi menor que o $F_{tabelado}$ (1,61 < 5,22), indicando que o modelo obtido se ajusta aos dados experimentais e também que este modelo é preditivo. Na Figura 6.4 está a representação da superfície de resposta para o limoneno concentrado na corrente lateral em função das temperaturas de evaporação e de condensação. Observa-se que as maiores quantidades de limoneno são obtidas a temperaturas de evaporação mais baixas, comportamento este esperado, pois a corrente avaliada é a lateral.



Figura 6.4 - Superfície de resposta do percentual de limoneno na corrente lateral resultante do processo de evaporação a 2 mbar em função da temperatura de evaporação e da temperatura de condensação.

os cicilos que nuo ioram signino		10000000	(p < 0, 1)	/•	
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F tabelado
Regressão	2,10	2	1,05	0,93	2,70
Resíduo	16,98	15	1,13		
Falta de ajuste	16,57	12	1,38	10,14	5,22
Erro puro	0,41	3	0,14		
Total	19,08	17			
% de variação explicada (R ²)	11,03%				
% máximo de variação explicável	97,86%				

Tabela 6.11 - ANOVA do limoneno na corrente lateral (20 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

No ensaio para concentrar limoneno na corrente lateral a pressão de 20 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ se apresentou inferior ao $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$, maior que o $F_{tabelado}$. Isto significa que o modelo não se ajusta bem aos dados experimentais e que também não é preditivo.

Os resultados do limoneno na corrente lateral foram de 93,31 a 99,48% nos ensaios realizados a 2 mbar e de 94,10 a 98,04% nos ensaios a 20 mbar. Em 90% de significância, a temperatura do evaporador foi significativa nos ensaios a 2 mbar e a vazão nos ensaios a 20 mbar. O maior valor de limoneno a 2 mbar foi encontrado no ensaio nas seguintes condições: 26,2°C a temperatura do evaporador, 0°C a temperatura do condensador e 13 mL/min a vazão. Trabalhando a 20 mbar, o maior valor de limoneno encontrado foi nas seguintes condições: 85°C a temperatura do evaporador, 0°C a temperatura do condensador e 13 mL/min a vazão.

6.1.3 Resíduo

A Tabela 6.12 apresenta os resultados das concentrações mássicas (em %) de limoneno presentes na corrente resíduo procedentes do processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar. Os ensaios 15, 16, 17 e 18 são uma quadruplicata do ponto central.

114

				M _{late}	_{eral} (g)	Conc má	issica (%)
Ensaios	T _{evap} *	T _{cond} **	Vaz***	2 mbar	20 mbar	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	1,31	23,78	3,01	89,77
2	50	-5	16	1,48	27,73	10,15	92,15
3	50	5	10	1,89	26,08	4,71	90,23
4	50	5	16	2,08	23,25	9,29	91,63
5	120	-5	10	2,3	1,92	1,97	3,93
6	120	-5	16	1,78	2,18	1,97	5,47
7	120	5	10	2,3	2,21	1,85	5,27
8	120	5	16	1,89	2,13	2,68	5,64
9	26,2	0	13	18,6	33,46	1,11	95,43
10	143,8	0	13	1,11	1,12	1,11	10,99
11	85	-8,4	13	1,59	1,98	2,85	12,74
12	85	8,4	13	1,86	4,35	4,15	44,88
13	85	0	8	1,91	1,88	2,34	7,41
14	85	0	18	2,06	2,88	4,30	24,30
15 (C)	85	0	13	2,31	1,85	3,38	9,16
16 (C)	85	0	13	1,89	3,28	3,81	21,82
17 (C)	85	0	13	1,97	3,14	2,85	28,94
18 (C)	85	0	13	2,24	8,04	3,21	36,90
Média	-	-	-	2,10	4,08	3,31	24,21
DP ****	-	-	-	0,20	2,72	0,40	11,77

Tabela 6.12 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de limoneno na corrente de resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

*Tevap = Temperatura do evaporador (°C)

**Tcond = Temperatura do condensador (°C)

***Vaz = Vazão de alimentação (mL/min)

****DP = Desvio Padrão

A comparação acerca dos resultados apresentados na Tabela 6.12 será realizada entre os ensaios de cada pressão (2 e 20 mbar) e, posteriormente, para um mesmo ensaio em ambas as pressões estudadas, ou seja, considerando as mesmas condições operacionais do fracionamento do óleo de laranja.

Nos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, as concentrações de limoneno na corrente de resíduo foram superiores quando comparadas àquelas do planejamento utilizando pressão de 2 mbar porém, em ambos os planejamentos observou-se que este terpeno não foi concentrado em nenhum dos ensaios, onde as quantidades de limoneno na corrente resíduo foram menores que as concentrações presentes originalmente na matéria-prima (89,75% para 2 mbar e

98,39% para 20 mbar). Esses resultados estão de acordo com o que já era esperado, uma vez que o limoneno concentrado teria que ser coletado apenas na corrente de destilado. Como observado nas correntes de lateral (6.1.2) e de resíduo, o limoneno está presente em ambas, mostrando que possivelmente, a matéria-prima não foi totalmente evaporada, sendo coletado quantidades de limoneno na corrente de lateral e de resíduo.

Os efeitos das variáveis no processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar em relação à concentração de limoneno presente na corrente de resíduo considerando um nível de confiança de 90% estão apresentados nas Tabelas 6.13 e 6.14, respectivamente e nas Figuras 6.5 e 6.6, respectivamente.

Tabela 6.13 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) em relação a concentração de limoneno na corrente de resíduo.

	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	3,71579	0,105523	35,2131	0,000050	3,46746	3,96413
T evap (°C)(L)	-2,61863	0,242451	-10,8006	0,001698	-3,18920	-2,04805
T evap (°C)(Q)	0,02542	0,002405	10,5685	0,001810	0,01976	0,03107
T cond (°C)(L)	0,52091	0,242451	2,1485	0,120877	-0,04967	1,09149
T cond (°C)(Q)	-0,00507	0,002405	-2,1094	0,125444	-0,01073	0,00059
Vazão (mL/min)(L)	2,71940	0,242451	11,2163	0,001519	2,14882	3,28997
Vazão (mL/min)(Q)	-0,02681	0,002405	-11,1489	0,001546	-0,03247	-0,02115
T evap x T cond	-0,05652	0,280348	-0,2016	0,853111	-0,71629	0,60324
T evap x Vazão	-2,72251	0,280348	-9,7112	0,002319	-3,38228	-2,06275
T cond x Vazão	-0,43120	0,280348	-1,5381	0,221638	-1,09096	0,22856



Figura 6.5 - Diagrama Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente de resíduo.

	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	35,9220	3,132443	11,4677	0,001423	28,5502	43,2938
T evap (°C)(L)	-81,7166	7,197143	-11,3540	0,001466	-98,6541	-64,7791
T evap (°C)(Q)	0,8042	0,071386	11,2653	0,001500	0,6362	0,9722
T cond (°C)(L)	7,3490	7,197143	1,0211	0,382368	-9,5885	24,2865
T cond (°C)(Q)	-0,0710	0,071386	-0,9947	0,393213	-0,2390	0,0970
Vazão (mL/min)(L)	9,7919	7,197143	1,3605	0,266864	-7,1456	26,7294
Vazão (mL/min)(Q)	-0,0992	0,071386	-1,3900	0,258710	-0,2672	0,0688
T evap x T cond	0,3922	8,322114	0,0471	0,965376	-19,1928	19,9771
T evap x Vazão	-0,4652	8,322114	-0,0559	0,958934	-20,0502	19,1197
T cond x Vazão	-0,5354	8,322114	-0,0643	0,952747	-20,1204	19,0495

Tabela 6.14 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação a concentração de limoneno na corrente de resíduo.



Figura 6.6 - Gráfico Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre a concentração de limoneno na corrente de resíduo.

Em nível de 90% de confiança, a temperatura do evaporador (linear e quadrática), vazão de alimentação (linear e quadrática) e a interação entre a temperatura do evaporador e vazão de alimentação foram as variáveis estatisticamente significativas (p < 0,1) para os ensaios realizados à pressão de 2 mbar (Tabela 6.13 e Figura 6.5). Porém, a variável temperatura do evaporador (linear) apresentou efeito contrário no processo, onde o sinal negativo indica que quanto maior a temperatura, menor a quantidade de limoneno presente na corrente de resíduo. Nos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, apenas a temperatura do evaporador (linear e quadrática) foi estatisticamente significativa (p

< 0,1) com o efeito negativo para a temperatura do evaporador (linear), conforme visualizado na Tabela 6.14 e na Figura 6.6.

Os coeficientes de regressão do modelo para os processos de evaporação a 2 e 20 mbar estão apresentados nas Tabelas 6.15 e 6.16, respectivamente. Porém, nem todas as variáveis foram estatisticamente significativas (p < 0,1) então, para descrever a equação do modelo para a concentração de limoneno na corrente de resíduo, foram consideradas apenas as variáveis estatisticamente significativas em nível de confiança de 90%.

Tabela 6.15 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente resíduo no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	3,71375	0,100994	3,47607	3,95142
T evap (°C)(L)	-1,30963	0,121123	-1,59468	-1,02459
T evap (°C)(Q)	0,01271	0,001201	0,00988	0,01554
Vazão (mL/min)(L)	1,35938	0,121123	1,07434	1,64443
Vazão (mL/min)(Q)	-0,01340	0,001201	-0,01623	-0,01058
T evap x Vazão	-1,36126	0,140174	-1,69114	-1,03138

Tabela 6.16 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de limoneno na corrente resíduo no processo de evaporação (20 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	34,8461	2,879513	28,0696	41,6227
T evap (°C)(L)	-41,0337	3,592920	-49,4892	-32,5783
T evap (°C)(Q)	0,4039	0,035630	0,3201	0,4878

As equações dos modelos matemáticos, as quais descrevem o processo de evaporação a 2 e 20 mbar (Equações 6.4 e 6.5, respectivamente) dentro da faixa de estudo previamente selecionada, estão apresentadas abaixo.

 $[Limoneno resíduo 2 mbar] = 3,714 - 1,310T_{evap} + 1,359Q + 0,013(T_{evap})^2 - 0,013Q^2 - 1,361T_{evap}Q$ (Eq. 6.4)

[Limoneno resíduo 20 mbar] = $34,846 - 41,034T_{evap} - 0,404(T_{evap})^2$ (Eq. 6.5)

A qualidade do ajuste do modelo foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) (Tabelas 6.17 e 6.18). A partir desta análise, verifica-se o quanto o modelo matemático (Equações 6.4 e 6.5) gerado representa os dados experimentais do processo de evaporação do limoneno na corrente de resíduo para as pressões estudadas (2 e 20 mbar).

de elenee que nue rerain elgrinit		p100000	JO (P < 0,	• / •	
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F calculado	F tabelado
Regressão	60,62	5	12,12	3,49	2,39
Resíduo	41,65	12	3,47		
Falta de ajuste	41,18	9	4,58	29,11	5,24
Erro puro	0,47	3	0,16		
Total	102,27	17			
% de variação explicada (R ²)	59,27%				
% máximo de variação explicável	99,54%				

Tabela 6.17 - ANOVA do limoneno na corrente resíduo (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

De acordo com a Tabela 6.17, nos ensaios conduzidos a uma pressão de 2 mbar para concentrar limoneno na corrente resíduo, o primeiro e o segundo $F_{calculado}$ foram maiores que os $F_{tabelados}$ (3,49 > 2,39 e 29,11 > 5,24, respectivamente), o que demonstra que o modelo obtido além de não se ajustar aos dados experimentais, não é preditivo.

_	-			~	-	• •			-		
descons	side	ranc	lo c	os efeitos	que n	ião foram	signific	cativos no	processo	(p < 0,	1).
Tabela	6.	18	-	ANOVA	do	limonenc	o na	corrente	resíduo	(20	mbar)

		<u> </u>			. ,
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F calculado	F tabelado
Regressão	18815,22	2	9407,61	37,64	2,70
Resíduo	3748,93	15	249,93		
Falta de ajuste	3333,38	12	277,78	2,00	5,22
Erro puro	415,55	3	138,52		
Total	22564,14	17			
% de variação explicada (R ²)	83,39%				
% máximo de variação					
explicável	98,16%				
*SO Somo Quadrática					

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

Quanto aos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ foi 13,9 vezes superior ao $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$, menor que o $F_{tabelado}$ (2,00 < 5,22). Isto significa que o modelo além de se ajustar bem aos dados experimentais, o mesmo também é preditivo.

A Figura 6.7 apresenta a Superfície de Resposta para o limoneno na corrente de resíduo a 20 mbar.



Figura 6.7 - Superfície de resposta do percentual de limoneno do processo de evaporação a 20 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação.

A análise da superfície de resposta (Figura 6.7) mostrou que, dentro do intervalo em que as variáveis independentes foram avaliadas, houve uma diminuição na concentração de limoneno à medida que a temperatura do evaporador foi aumentada.

Conforme visualizado nos resultados expostos anteriormente, o limoneno foi maximizado nas correntes destilado e lateral do processo de evaporação nas pressões estudadas (2 e 20 mbar) e, minimizado na corrente de resíduo. Os ensaios em que maiores quantidades de foram obtidas (89,77 a 95,43%) na corrente resíduo foram aqueles realizados a temperaturas do evaporador mais

baixas (26,2 e 50°C) a 20 mbar. Ao utilizar 2 mbar como pressão, a corrente de resíduo apresentou pequenas quantidades de limoneno em todos os ensaios do planejamento experimental (1,11 a 10,15%).

6.2 EPÓXIDOS CIS E TRANS LIMONENO

Os epóxidos de limoneno são limonenos oxidados, os quais servem para indicar uma possível degradação sofrida durante o processo. A Tabela 6.19 relaciona a quantidade inicial de epóxidos no óleo de laranja e os resultados experimentais do percentual de epóxidos de limoneno nas correntes destilado, lateral e resíduo e os ensaios do planejamento do processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar.

Tabela 6.19	- Resulta	dos de conce	entraçã	o mássica	(em %) do	s epóxidos	cis e
trans de lime	oneno na	alimentação	e nas	correntes	resultantes	do process	so de
evaporação a	a pressão	de 2 mbar.					

Ensaios	Calimentação (%)	C _{destilado} (%)	C _{lateral} (%)	C _{resíduo} (%)	C _{D,L,R} (%)*
1	47,20	0,00	38,93	0,64	39,57
2	47,21	0,00	33,89	1,72	35,61
3	47,21	0,00	37,81	1,36	39,18
4	47,20	0,00	34,21	2,31	36,51
5	118,01	68,94	67,36	0,00	136,30
6	118,01	63,13	69,13	0,00	132,26
7	118,01	70,34	60,82	0,00	131,16
8	118,01	0,00	80,60	0,00	80,60
9	23,60	0,00	0,00	0,00	0,00
10	118,06	92,12	40,10	0,00	132,22
11	88,50	0,00	74,42	0,00	74,42
12	88,51	52,11	49,80	0,00	101,90
13	88,51	0,00	62,93	0,00	62,93
14	88,51	0,00	48,02	0,00	48,02
15 (C)	88,50	0,00	56,83	0,00	56,83
16(C)	88,50	0,00	71,36	0,00	71,36
17 (C)	88,50	0,00	61,21	0,00	61,21
18 (C)	88,51	0,00	61,37	0,00	61,37
Desvio padrão	0,00	0,00	6,15	0,00	6,15

*C_{D,L,R} = soma das concentrações de destilado, lateral e resíduo.

Ensaios	C _{alimentação} (%)	C _{destilado} (%)	C _{lateral} (%)	C _{resíduo} (%)	C _{D,L,R} (%)*
1	26,00	0,00	0,00	16,65	16,65
2	26,01	0,00	4,56	20,52	25,08
3	26,01	1,01	5,91	19,56	26,48
4	26,02	1,39	7,07	18,60	27,06
5	91,01	8,85	88,89	0,00	97,74
6	91,02	13,34	77,67	0,00	91,01
7	91,01	15,37	91,31	0,00	106,67
8	91,05	13,21	78,21	0,00	91,42
9	26,01	0,57	0,00	23,76	24,33
10	91,02	18,68	70,04	0,00	88,72
11	58,51	4,07	49,09	1,49	54,65
12	65,02	4,08	59,96	3,96	68,00
13	65,01	4,54	55,66	1,05	61,26
14	58,57	8,19	49,21	2,76	60,17
15 (C)	58,51	5,96	50,49	1,59	58,04
16(C)	65,01	6,60	55,14	2,69	64,44
17 (C)	65,01	5,13	57,94	3,23	66,30
18 (C)	65,01	1,12	61,06	7,88	70,06
Desvio padrão	3,25	2,46	4,48	2,77	5,02

Tabela 6.20 - Resultados de concentração mássica (em %) dos epóxidos *cis* e *trans* de limoneno na alimentação e nas correntes resultantes do processo de evaporação a pressão de 20 mbar.

*C_{D.L.R} = soma das concentrações de destilado, lateral e resíduo.

A quantificação das concentrações de epóxidos presentes nas correntes destilado, lateral e resíduo foi realizada para acompanhar a degradação do limoneno durante o processo de evaporação, uma vez que o mesmo leva um determinado tempo para percorrer o caminho até a sua coleta nos respectivos balões, podendo ocorrer degradação térmica do referido composto e formar os epóxidos.

Ao comparar os valores de epóxidos presentes nas correntes com as quantidades originalmente do óleo, observa-se que não houve aumentos substanciais na concentração dos mesmos, o que poderia comprometer a qualidade desses compostos fracionados do óleo de laranja.

5.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

De acordo com os resultados apresentados neste Capítulo, o planejamento realizado a 2 mbar foi o que mostrou melhores resultados para as correntes destilado e resíduo, enquanto que o planejamento realizado a 20 mbar apresentou melhores resultados para a corente lateral, ainda que a maior concentração de limoneno tenha sido obtida a 2 mbar (corrente lateral).

Para obtenção de limoneno mais concentrado nas correntes destilado e lateral, as condições ótimas de trabalho são: 50°C a temperatura do evaporador, - 5°C a temperatura do condensador e 10 ml/min a vazão de alimentação para o destilado e; 85°C a temperatura do evaporador, 0°C a temperatura do condensador e 13 ml/min a vazão de alimentação para o lateral. Na corrente resíduo, as menores quantidades de limoneno foram encontradas nos pontos extremos do planejamento, ou seja, 26,2 e 143,5°C as temperaturas do evaporador, 0°C a temperaturas do alimentação.

CAPÍTULO 7 -CONCENTRAÇÃO DE VALENCENO E DECANAL OBTIDOS DO ÓLEO DE LARANJA ATRÁVES DE UM SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO

Neste Capítulo serão apresentadas as concentrações dos compostos valenceno e decanal presentes nas correntes resultantes do processo de evaporação do óleo de laranja realizado a pressões de 2 e 20 mbar. Os resultados de cada composto estão divididos pelas correntes resultantes do processo (destilado, lateral e resíduo).

7.1 VALENCENO

7.1.1 Destilado e Lateral

Nas correntes destilado e lateral não foi identificada a presença do composto valenceno em ambos os planejamentos (pressões de 2 e 20 mbar), demonstrando que nessas correntes, o composto em questão não foi concentrado, uma vez que nessas correntes o esperado é a concentração de compostos de maior volatilidade.

Esta afirmação está de acordo com os resultados apresentados por Beneti *et al.* (2011) quando estudaram o fracionamento da fase oleosa concentrada obtida do processamento de suco de laranja doce através da destilação a vácuo, onde a concentração de valenceno foi muito superior no fundo da coluna quando comparado ao topo da coluna.

7.1.2 Resíduo

Como observado na Tabela 7.1, a presença de pequenas quantidades de valenceno só foi visualizada na corrente resíduo do processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar. Os ensaios 15, 16, 17 e 18 são uma quadruplicata do ponto central. De acordo com o resultado apresentado no Capítulo 4, o composto valenceno não foi quantificado no óleo de laranja, por se encontrar abaixo do limite de detcção do cromatógrafo.

Ensaios	T evap (°C)	T cond (°C)	Vazão (ml/min)	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	0,83	0,00
2	50	-5	16	1,19	0,00
3	50	5	10	1,08	0,00
4	50	5	16	1,13	0,00
5	120	-5	10	0,00	0,00
6	120	-5	16	0,00	0,00
7	120	5	10	0,00	0,00
8	120	5	16	0,00	0,00
9	26,2	0	13	0,00	0,00
10	143,8	0	13	0,00	0,00
11	85	-8,4	13	0,00	0,99
12	85	8,4	13	0,00	0,89
13	85	0	8	0,00	0,88
14	85	0	18	0,00	1,01
15 (C)	85	0	13	0,00	0,89
16 (C)	85	0	13	0,00	0,94
17 (C)	85	0	13	0,00	0,90
18 (C)	85	0	13	0,00	0,78
Desvio Padrão	-	-	-	0,46	0,47

Tabela 7.1 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do valenceno na corrente resíduo resultante do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

Conforme observado na Tabela 7.1, em alguns ensaios do planejamento experimental foi possível concentrar o composto valenceno, principalmente quando se trabalhou com a maior pressão (20 mbar). Ao trabalhar com a maior pressão (20 mbar), foi necessário temperatura de evaporação maior (85°C) do que quando se trabalhou com pressão de 2 mbar (50°C) para concentrar valenceno. Em estudo para fracionar óleo de laranja através de destilação a vácuo realizado por Beneti *et al.* (2011), as concentrações mais elevadas de valenceno foram verificadas no óleo recolhido na parte inferior da coluna de destilação, onde os autores quantificaram a presença de 20,5% de valenceno em comparação a 13,9% presentes inicialmente no óleo.

Comportamento semelhante ao encontrado por Beneti *et al.* (2011), os resultados apresentados acima também mostraram que o composto valenceno foi concentrado apenas na corrente resíduo, onde estão presentes os compostos

menos voláteis e não-voláteis, tais como as polimetoxiflavonas tangeritina e nobiletina.

7.2 DECANAL

7.2.1 Destilado

Não foi detectada a presença do composto decanal na corrente destilado nos planejamentos a pressões de 2 e 20 mbar. A justificativa para este comportamento pode ser semelhante à apresentada para o valenceno, porém como decanal é mais volátil que valenceno, observa-se a presença deste aldeído na corrente lateral.

7.2.2 Lateral e resíduo

As Tabelas 7.2 e 7.3 mostram as quantidades obtidas de decanal nas correntes lateral e resíduo do processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar, sendo os ensaios 15, 16, 17 e 18 uma quadruplicata do ponto central.

Ensaios	T evap (°C)	T cond (°C)	Vazão (ml/min)	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	0,80	0,00
2	50	-5	16	0,74	0,00
3	50	5	10	0,72	0,00
4	50	5	16	0,00	0,00
5	120	-5	10	0,99	0,84
6	120	-5	16	0,96	0,77
7	120	5	10	1,09	0,92
8	120	5	16	1,24	0,80
9	26,2	0	13	0,00	0,00
10	143,8	0	13	0,84	0,79
11	85	-8,4	13	0,96	0,67
12	85	8,4	13	1,16	0,00
13	85	0	8	0,97	0,69
14	85	0	18	0,92	0,00
15 (C)	85	0	13	0,94	0,00
16 (C)	85	0	13	1,00	0,00
17 (C)	85	0	13	1,00	0,00
18 (C)	85	0	13	0,96	0,00
Desvio Pa	drão -	-	-	0,34	0,40

Tabela 7.2 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do decanal na corrente lateral resultante do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

Ensaios	T evap (°C)	T cond (°C)	Vazão (ml/min)	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	2,08	0,81
2	50	-5	16	2,97	0,84
3	50	5	10	2,45	0,86
4	50	5	16	2,89	0,91
5	120	-5	10	0,00	0,00
6	120	-5	16	0,00	0,63
7	120	5	10	0,00	0,00
8	120	5	16	0,00	0,87
9	26,2	0	13	0,00	0,00
10	143,8	0	13	0,00	0,00
11	85	-8,4	13	0,84	1,90
12	85	8,4	13	1,08	1,85
13	85	0	8	0,70	1,57
14	85	0	18	1,17	2,17
15 (C)	85	0	13	0,97	1,66
16 (C)	85	0	13	0,94	1,85
17 (C)	85	0	13	0,96	1,79
18 (C)	85	0	13	0,95	1,90
Desvio Pa	drão -	-	-	1,00	0,76

Tabela 7.3 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) do decanal na corrente resíduo resultante do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

Decanal presente na corrente lateral foi mais concentrado quando a pressão utilizada no processo foi de 2 mbar, enquanto que na corrente resíduo, este composto apresentou melhores concentrações na pressão de 20 mbar. Em pressão menor, como 2 mbar, a temperatura de evaporação de 50°C foi necessária para se obter decanal em maiores concentrações na corrente resíduo.

Segundo Liu *et al.* (2012) as condições ótimas para isolar compostos como decanal e valenceno de óleo de laranja doce através do uso combinado de destilação molecular e cromatografia em coluna são: $T = 30^{\circ}C$, P = 1,5 atm, velocidade de rotação = 200 rpm e vazão = 8 mL/min. Sob essas condições, os referidos autores obtiveram as seguintes concentrações dos compostos estudados: decanal concentrou de 0,59% para 9,11% e valenceno, de 0,24% para 7,96%. Nas condições estudadas, a maior concentração de valenceno foi 1,19% e de decanal foi 2,97% (ambas na corrente de resíduo a 2 mbar na temperatura de evaporação de 50°C).

Stuart *et al.* (2001) estudando a desterpenação do óleo obtido da casca de laranja através de destilação a vácuo, observaram que a concentração de decanal aumentou para 1,8% trabalhando com temperatura de 80°C e pressão de 10 mbar.

A partir da quantidade de amostra alimentada inicialmente e das quantidades das correntes resultantes, pode-se calcular o percentual de lateral, destilado e resíduo obtidos após o processo de evaporação. Através do balanço de massa (Equação 3.1), foram calculadas as eventuais perdas sofridas ao longo do processo.

$$X_{MP}$$
 . $M_{MP} = X_D$. $M_D + X_L$. $M_L + X_R$. M_R (Equação 3.1)

Onde X_{MP} , X_D , X_L e X_R são as concentrações de matéria-prima, destilado, lateral e resíduo, respectivamente. M_{MP} , M_D , M_L e M_R correspondem às massas de matéria-prima, destilado, lateral e resíduo, respectivamente.

7.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

Os resultados encontrados para o composto valenceno e decanal estão de acordo com a volatilidade dos mesmos, uma vez que esses compostos não foram encontrados na corrente destilado, a qual é constituída de substâncias mais voláteis.

A presença de valenceno na corrente resíduo indicou a concentração desse composto, já que não foi detectado a presença dele no óleo de laranja. O decanal, por apresentar ponto de ebulição menor que o valenceno, foi quantificado nas correntes lateral e resíduo.

130

CAPÍTULO 8 -CONCENTRAÇÃO DA TANGERITINA E NOBILETINA PRESENTES NO ÓLEO DE LARANJA PELO SISTEMA HÍBRIDO DE EVAPORAÇÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados de concentração dos flavonóides tangeritina e nobiletina presentes na fração resíduo do processo de evaporação do óleo de laranja realizado a pressões de 2 e 20 mbar. A quantificação de tangeritina e nobiletina também foi realizada nas correntes destilado e lateral dos limites do planejamento experimental.

8.1 TANGERITINA

8.1.1 Destilado e lateral

Não foi identificada a presença de tangeritina nos ensaios correspondentes aos limites do planejamento (ensaios 9 e 10) para as correntes destilado e lateral resultantes do processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar. O percentual de tangeritina não foi detectado na corrente destilado.

Na corrente lateral, além de valores não detectados (ensaio 9 nas pressões de 2 e 20 mbar), 0,06 e 0,13% também foram encontrados para o 10º ensaio do planejamento, indicando que nessas correntes, o composto em questão não foi concentrado. Esses resultados apresentam-se coerentes uma vez que o esperado é que esses compostos, por apresentarem massas molares maiores que os terpenos e oxigenados, estejam presentes em maiores quantidades na corrente resíduo.

8.1.2 Resíduo

A Tabela 8.1 mostra as concentrações mássicas (em %) de tangeritina presentes nos resíduos oriundos do processo de evaporação conduzido a pressões de 2 e 20 mbar. Os pontos 15, 16, 17 e 18 são uma quadruplicata do ponto central.

132

				M _{resíduo} (g)		Conc mássica (%)		
Ensaios	T _{evap} *	T _{cond} **	Vaz***	2 mbar	20 mbar	2 mbar	20 mbar	-
1	50	-5	10	1,31	23,78	2,86	0,21	-
2	50	-5	16	1,48	27,73	2,54	0,16	
3	50	5	10	1,89	26,08	2,87	0,18	
4	50	5	16	2,08	23,25	2,54	0,14	
5	120	-5	10	2,3	1,92	3,12	3,12	
6	120	-5	16	1,78	2,18	3,12	3,09	
7	120	5	10	2,3	2,21	3,35	3,20	
8	120	5	16	1,89	2,13	3,29	3,17	
9	26,2	0	13	18,6	33,46	0,16	0,08	
10	143,8	0	13	1,11	1,12	3,29	2,95	
11	85	-8,4	13	1,59	1,98	2,97	2,73	
12	85	8,4	13	1,86	4,35	3,19	1,74	
13	85	0	8	1,91	1,88	3,20	2,91	
14	85	0	18	2,06	2,88	3,01	2,38	
15 (C)	85	0	13	2,31	1,85	3,07	2,66	
16 (C)	85	0	13	1,89	3,28	2,86	2,40	
17 (C)	85	0	13	1,97	3,14	3,14	2,20	
18 (C)	85	0	13	2,24	8,04	2,89	1,92	
Média	-	-	-	2,10	4,08	2,99	2,30	
DP ****	-	-	-	0,20	2,72	0,14	0.31	

Tabela 8.1 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de tangeritina na corrente resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

*Tevap = Temperatura do evaporador (°C)

**Tcond = Temperatura do condensador (°C)

***Vaz = Vazão de alimentação (mL/min)

****DP = Desvio Padrão

A discussão acerca dos resultados visualizados na Tabela 8.1 será feita a partir da comparação de um mesmo ensaio em ambas as pressões estudadas, ou seja, considerando as mesmas condições operacionais do fracionamento do óleo de laranja.

No planejamento realizado à pressão de 2 mbar, as concentrações de tangeritina foram superiores quando comparadas àquelas do planejamento utilizando pressão de 20 mbar porém, em ambos planejamentos observou-se que este flavonoide foi concentrado com exceção nos ensaios 4 e 9 (20 mbar), onde a concentração de tangeritina foi semelhante a concentração presente originalmente na matéria-prima (0,15%).

Ao trabalhar com pressão de 2 mbar, tangeritina teve sua maior concentração em 28 vezes e a menor, em 1,33 vezes em relação à matéria-prima (0,12%). Enquanto que, com pressão de 20 mbar, sua maior concentração foi de 21,33 vezes e a menor 1,07 vezes à quantidade presente na matéria-prima (0,15%).

As Tabelas 8.2 e 8.3 e as Figuras 8.1 e 8.2 apresentam os efeitos das variáveis no processo de evaporação realizado a pressões de 2 e 20 mbar em relação à concentração de tangeritina obtida na corrente resíduo.

Tabela 8.2 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) em relação à concentração de tangeritina.

3	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	2,86115	0,036585	78,2061	0,000005	2,77505	2,94724
Vazão (mL/min)(L)	-0,23632	0,084058	-2,8114	0,067213	-0,43414	-0,03850
Vazão (mL/min)(Q)	0,00237	0,000834	2,8418	0,065548	0,00041	0,00433
T cond (°C)(L)	0,03922	0,084058	0,4666	0,672564	-0,15860	0,23704
T cond (°C)(Q)	-0,00032	0,000834	-0,3895	0,722922	-0,00229	0,00164
T evap (°C)(L)	1,22273	0,084058	14,5463	0,000704	1,02491	1,42054
T evap (°C)(Q)	-0,01202	0,000834	-14,4198	0,000723	-0,01398	-0,01006
Vazão x T cond	-0,01466	0,097196	-0,1508	0,889692	-0,24340	0,21408
Vazão x T evap	0,14373	0,097196	1,4788	0,235741	-0,08501	0,37247
T cond x T evap	0,09714	0,097196	0,9995	0,391224	-0,13159	0,32588



Figura 8.1 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) sobre a concentração de tangeritina.

, ,	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	2,01197	0,083618	24,0615	0,000157	1,81519	2,20875
Vazão (mL/min)(L)	-0,30441	0,192121	-1,5845	0,211259	-0,75654	0,14772
Vazão (mL/min)(Q)	0,00309	0,001906	1,6196	0,203758	-0,00140	0,00757
T cond (°C)(L)	-0,19686	0,192121	-1,0247	0,380923	-0,64900	0,25527
T cond (°C)(Q)	0,00190	0,001906	0,9945	0,393263	-0,00259	0,00638
T evap (°C)(L)	2,78877	0,192121	14,5157	0,000709	2,33664	3,24090
T evap (°C)(Q)	-0,02743	0,001906	-14,3933	0,000727	-0,03191	-0,02294
Vazão x T cond	0,00115	0,222152	0,0052	0,996189	-0,52165	0,52396
Vazão x T evap	0,00408	0,222152	0,0184	0,986496	-0,51872	0,52689
T cond x T evap	0,05191	0,222152	0,2337	0,830271	-0,47089	0,57472

Tabela 8.3 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação à concentração de tangeritina.



Figura 8.2 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre a concentração de tangeritina.

Em nível de 90% de confiança, as variáveis vazão de alimentação (linear e quadrática) e temperatura do evaporador (linear e quadrática) foram estatisticamente significativas (p < 0,1) para os ensaios realizados a pressão de 2 mbar (Tabela 8.2). Enquanto que, para os ensaios realizados a pressão de 20 mbar, apenas a temperatura do evaporador (linear e quadrática) foi estatisticamente significativa (p < 0,1) (Tabela 8.3). A variável temperatura do condensador e as interações entre as variáveis não foram estatisticamente significativas (p < 0,1) nas concentrações de tangeritina obtidas para ambos os ensaios.

Conforme pode-se visualizar nas Figuras 8.1 e 8.2, a temperatura do evaporador foi a variável que apresentou maior efeito, onde o sinal positivo sugere que quanto maior for a temperatura do evaporador, mais a tangeritina foi concentrada. Quanto à variável vazão de alimentação (Figura 8.1), a mesma apresentou um efeito contrário ao da temperatura do evaporador, ou seja, quanto maior a vazão de alimentação, menor a quantidade de tangeritina concentrada.

Nas Tabelas 8.4 e 8.5 estão apresentados os coeficientes de regressão do modelo, porém nem todas as variáveis foram estatisticamente significativas (p < 0,1) então, para descrever a equação do modelo para a concentração de tangeritina no processo de evaporação (2 e 20 mbar), foram consideradas apenas as variáveis estatisticamente significativas em nível de confiança de 90%.

Tabela 8.4 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de tangeritina no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	2,87995	0,03502	2,79755	2,96236
Vazão (mL/min)(L)	-0,11508	0,04199	-0,21391	-0,01626
Vazão (mL/min)(Q)	0,00115	0,00042	0,00017	0,00213
T evap (°C)(L)	0,61444	0,04199	0,51562	0,71327
T evap (°C)(Q)	-0,00604	0,00042	-0,00702	-0,00506

Tabela 8.5 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de tangeritina no processo de evaporação (20 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	2,04440	0,07687	1,86350	2,22529
T evap (°C)(L)	1,39967	0,09591	1,17396	1,62538
T evap (°C)(Q)	-0,01377	0,00095	-0,01601	-0,01153

As equações dos modelos matemáticos, as quais descrevem o processo de evaporação a 2 e 20 mbar (Equações 8.1 e 8.2, respectivamente) dentro da faixa de estudo previamente selecionada, estão apresentadas abaixo.

 $[Tangeritina 2 mbar] = 2,880 - 0,115Q + 0,614T_{evap} + 0,001Q^2 - 0,006(T_{evap})^2 (Eq. 8.1)$

A análise de variância (ANOVA) é a forma mais confiável de se avaliar a qualidade do ajuste do modelo. Diante disso, para verificar o quanto o modelo matemático (Equações 8.1 e 8.2) gerado representa os dados experimentais do processo de evaporação, análise de variância foi conduzida e está apresentada nas Tabelas 8.6 e 8.7 para as respectivas pressões estudadas (2 e 20 mbar).

A Metodologia de Superfície de Resposta foi empregada a fim de visualizar a melhor condição experimental na qual se tem um melhor rendimento para a variável resposta (concentração de tangeritina) (Figuras 8.3 e 8.4).

foram significativos no processo ($p < 0,1$).						
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F _{tabelado}	
Regressão	4,44	4	1,11	3,45	2,43	
Resíduo	4,19	13	0,32			
Falta de ajuste	4,14	10	0,41	21,89	5,23	
Erro puro	0,06	3	0,02			
Total	8,64	17	1,11			
% de variação explicada (R ²)	51,46%					
% máximo de variação explicável	99,34%					

Tabela 8.6 - ANOVA da tangeritina (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

A partir das tabelas ANOVA geradas pelo software Statistica Release 7.0, pode-se calcular os valores correspondentes ao teste F. Nos ensaios conduzidos a uma pressão de 2 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ foi 1,42 vezes superior ao $F_{tabelado}$, o que demonstra que o modelo obtido não se ajusta aos dados experimentais. O segundo $F_{calculado}$ foi maior que o $F_{tabelado}$ (21,89 > 5,23), indicando, assim, que o modelo não é preditivo. Diante disso, a Figura 8.3 apresenta uma tendência ao comportamento da tangeritina, onde é visualizado que o ponto de máximo indica que quanto maior a temperatura do evaporador, maior a concentração de tangeritina, dentro da faixa de temperatura e concentração analisadas.



Figura 8.3 - Comportamento do percentual de tangeritina do processo de evaporação a 2 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação.

foram significativos no processo ($p < 0,1$).						
Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F _{tabelado}	
Regressão	22,07	2	11,03	49,67	2,70	
Resíduo	3,33	15	0,22			
Falta de ajuste	3,04	12	0,25	2,56	5,22	
Erro puro	0,30	3	0,10			
Total	25,40	17				
% de variação explicada (R ²)	86,90%					
% máximo de variação explicável	98,83%					

Tabela 8.7 - ANOVA da tangeritina (20 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

Quanto aos ensaios realizados à pressão de 20 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ se apresentou 18,43 vezes superior ao $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$, menor que o $F_{tabelado}$ (2,56 > 5,22). Isto significa que o modelo além de se ajustar bem aos dados experimentais, o mesmo também é preditivo.



Figura 8.4 - Superfície de resposta do percentual de tangeritina do processo de evaporação a 20 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação.

A análise da superfície de resposta (Figura 8.4) mostrou que, dentro do intervalo em que as variáveis independentes foram avaliadas, houve um aumento na concentração de tangeritina (processo de evaporação 20 mbar) à medida em que a temperatura de evaporação foi aumentada. A região de máximo está situada na área mais escura do gráfico, a qual representa a condição experimental ótima para a realização do processo de evaporação proposto.

8.2 NOBILETINA

8.2.1 Destilado e lateral

Nos limites do planejamento (ensaios 9 e 10) nas correntes destilado e lateral, não foi identificada a presença de nobiletina em ambas pressões (2 e 20 mbar). O percentual de nobiletina não foi detectado indicando que nessas correntes, o composto em questão não foi concentrado, uma vez que nessas correntes o esperado é a concentração de compostos de maior volatilidade.

A Tabela 8.8 mostra as concentrações mássicas (em %) de nobiletina presentes nos resíduos obtidos do processo de evaporação conduzido a pressões de 2 e 20 mbar. Os pontos 15, 16, 17 e 18 são uma quadruplicata do ponto central.

Tabela 8.8 - Condições experimentais e resultados de concentração mássica (em %) de nobiletina da corrente resíduo obtidos do processo de evaporação a pressões de 2 e 20 mbar.

				M _{resi}	M _{resíduo} (g)		issica (%)
Ensaios	T _{evap} *	T _{cond} **	Vaz***	2 mbar	20 mbar	2 mbar	20 mbar
1	50	-5	10	1,31	23,78	0,54	0,02
2	50	-5	16	1,48	27,73	0,46	0,01
3	50	5	10	1,89	26,08	0,52	0,01
4	50	5	16	2,08	23,25	0,46	0,00
5	120	-5	10	2,3	1,92	0,71	0,63
6	120	-5	16	1,78	2,18	0,69	0,64
7	120	5	10	2,3	2,21	0,72	0,61
8	120	5	16	1,89	2,13	0,69	0,62
9	26,2	0	13	18,6	33,46	0,24	0,10
10	143,8	0	13	1,11	1,12	0,70	0,56
11	85	-8,4	13	1,59	1,98	0,65	0,50
12	85	8,4	13	1,86	4,35	0,63	0,29
13	85	0	8	1,91	1,88	0,66	0,53
14	85	0	18	2,06	2,88	0,62	0,40
15 (C)	85	0	13	2,31	1,85	0,63	0,45
16 (C)	85	0	13	1,89	3,28	0,57	0,42
17 (C)	85	0	13	1,97	3,14	0,63	0,39
18 (C)	85	0	13	2,24	8,04	0,59	0,33
Média	-	-	-	2,10	4,08	0,61	0,40
DP ****	-	-	-	0,20	2,72	0,05	0,03

*Tevap = Temperatura do evaporador (°C)

**Tcond = Temperatura do condensador (°C)

***Vaz = Vazão de alimentação (mL/min)

****DP = Desvio Padrão

Os resultados apresentados acima (Tabela 8.8) serão discutidos pela comparação de um mesmo ensaio nas pressões de 2 e 20 mbar.

Em ambos os planejamentos (pressões de 2 e 20 mbar), a nobiletina durante o processo de evaporação, sofreu substancial concentração, elevando assim suas quantidades, porém houve ensaios do planejamento a 20 mbar em que a nobiletina não foi concentrada, ou seja, as quantidades permaneceram iguais às da matéria-prima (0,01%). Comportamento similar ao da tangeritina, nobiletina também foi mais concentrada quando se trabalhou a 2 mbar.

Nas condições estudadas, as maiores concentrações alcançadas de nobiletina foram de 72 e 64 vezes (2 e 20 mbar respectivamente) à quantidade presente na matéria-prima e as menores concentrações foram de 24 e 2 vezes (2 e 20 mbar respectivamente) em relação à matéria-prima.

As Tabelas 8.9 e 8.10 e, as Figuras 8.5 e 8.6 apresentam os efeitos das variáveis no processo de evaporação realizado de 2 e 20 mbar em relação à concentração de nobiletina resultante da corrente resíduo.

3	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	0,59555	0,007999	74,4486	0,000005	0,57672	0,61437
Vazão (mL/min)(L)	-0,05390	0,018380	-2,9328	0,060865	-0,09716	-0,01066
Vazão (mL/min)(Q)	0,00054	0,000182	2,9519	0,059931	0,00011	0,00097
T cond (°C)(L)	-0,01786	0,018380	-0,9719	0,402806	-0,06112	0,02539
T cond (°C)(Q)	0,00018	0,000182	1,0021	0,390122	-0,00025	0,00061
T evap (°C)(L)	0,26173	0,018380	14,2402	0,000750	0,21848	0,30498
T evap (°C)(Q)	-0,00257	0,000182	-14,1000	0,000773	-0,00300	-0,00214
Vazão x T cond	0,00426	0,021253	0,2006	0,853870	-0,04575	0,05428
Vazão x T evap	0,02737	0,021253	1,2879	0,288144	-0,02264	0,07739
T cond x T evap	0,00411	0,021253	0,1933	0,859060	-0,04591	0,05412

Tabela 8.9 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (2 mbar) em relação à concentração de nobiletina.



Figura 8.5 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveisdo processo de evaporação (2 mbar) sobre a concentração de nobiletina.

Tabela 8.10 - Tabela dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) em relação à concentração de nobiletina.

, ,	Efeito	Erro puro	t(3)	р	-90%	+90%
Média	0,37715	0,013836	27,2581	0,000108	0,34459	0,40971
Vazão (mL/min)(L)	-0,04790	0,031790	-1,5067	0,228992	-0,12271	0,02692
Vazão (mL/min)(Q)	0,00048	0,000315	1,5165	0,226660	-0,00026	0,00122
T cond (°C)(L)	-0,04383	0,031790	-1,3789	0,261761	-0,11865	0,03098
T cond (°C)(Q)	0,00042	0,000315	1,3214	0,278095	-0,00032	0,00116
T evap (°C)(L)	0,53756	0,031790	16,9097	0,000450	0,46275	0,61238
T evap (°C)(Q)	-0,00529	0,000315	-16,7636	0,000462	-0,00603	-0,00454
Vazão x T cond	-0,00005	0,036759	-0,0014	0,998980	-0,08656	0,08646
Vazão x T evap	0,00638	0,036759	0,1734	0,873364	-0,08013	0,09288
T cond x T evap	-0,00534	0,036759	-0,1453	0,893654	-0,09185	0,08117



Figura 8.6 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis do processo de evaporação (20 mbar) sobre a concentração de nobiletina.

Ao adotar 90% como nível de confiança, o comportamento da nobiletina foi igual ao da tangeritina. As variáveis vazão de alimentação (linear e quadrática) e temperatura do evaporador (linear e quadrática) foram estatisticamente significativas (p < 0,1) para os ensaios realizados a 2 mbar. Nos ensaios conduzidos à pressão de 20 mbar, apenas a temperatura do evaporador (linear e quadrática) foi estatisticamente significativa (p < 0,1).

Ao visualizar o efeito das variáveis estudadas no processo de evaporação através das Figuras 8.5 e 8.6, observou-se que a temperatura do evaporador foi a variável que apresentou maior efeito para ambas as pressões trabalhadas (2 e 20 mbar). Quanto à variável vazão de alimentação (Figura 8.5), a mesma apresentou um efeito negativo.

Os coeficientes de regressão do modelo estão apresentados nas Tabelas 8.11 e 8.12, porém nem todas as variáveis foram estatisticamente significativas (p < 0,1). Logo, para descrever a equação do modelo para a concentração de nobiletina no processo de evaporação (2 e 20 mbar), apenas as variáveis estatisticamente significativas em nível de confiança de 90% foram consideradas.

Tabela 8.11 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de nobiletina no processo de evaporação (2 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	0,59852	0,00766	0,58050	0,61653
Vazão (mL/min)(L)	-0,02647	0,00918	-0,04808	-0,00486
Vazão (mL/min)(Q)	0,00026	0,00009	0,00005	0,00048
T evap (°C)(L)	0,13135	0,00918	0,10974	0,15296
T evap (°C)(Q)	-0,00129	0,00009	-0,00151	-0,00108

Tabela 8.12 - Tabela dos coeficientes de regressão do modelo obtido para a concentração de nobiletina no processo de evaporação (20 mbar) considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos (p < 0,1).

	Coeficiente	Erro	-90%	+90%
Média	0,37796	0,01272	0,34803	0,40790
T evap (°C)(L)	0,26891	0,01587	0,23156	0,30626
T evap (°C)(Q)	-0,00264	0,00016	-0,00301	-0,00227

As equações dos modelos matemáticos para descreverem o processo de evaporação a 2 e 20 mbar estão apresentadas nas Equações 8.3 e 8.4, respectivamente.

[Nobiletina 20 mbar] =
$$0.378 + 0.269T_{evap} - 0.003(T_{evap})^2$$
 (Eq. 8.4)

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para verificar o quanto o modelo matemático (Equações 8.3 e 8.4) obtido representa os dados experimentais do processo de evaporação (validação do modelo) através do teste F. Análise de Variância para ambos os planejamentos está apresentada nas Tabelas 8.13 e 8.14 para as respectivas pressões estudadas (2 e 20 mbar). As Figuras 8.7 e 8.8 apresentam as superfícies de resposta geradas a partir dos modelos descritos nas Equações 8.3 e 8.4.

A Metodologia de Superfície de Resposta foi empregada a fim de visualizar a melhor condição experimental na qual se tem um melhor rendimento para a variável resposta (concentração de nobiletina) (Figuras 8.7 e 8.8).

Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F tabelado
Regressão	0,207	4	0,052	20,40	2,43
Resíduo	0,033	13	0,002		
Falta de ajuste	0,030	10	0,003	3,35	5,23
Erro puro	0,003	3	0,001		
Total	0,240	17	0,052		
% de variação explicada (R ²)	86,33%				
% máximo de variação explicável	98,87%				

Tabela 8.13 - ANOVA da nobiletina (2 mbar) desconsiderando os efeitos que não foram significativos no processo (p < 0,1).

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

No processo de evaporação conduzido a 2 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ foi 8,40 vezes maior que o $F_{tabelado}$, indicando, assim, que o modelo se ajusta bem aos resultados obtidos nos experimentos ($F_{calculado} > F_{tabelado}$), enquanto que o
segundo $F_{calculado}$ foi menor que o $F_{tabelado}$ (3,35 < 5,23), mostrando que o modelo também é preditivo ($F_{calculado}$ < $F_{tabelado}$). A Figura 8.7 mostra o ponto de máximo, indicando que quanto maior a temperatura do evaporador e menor a vazão de alimentação, maior a concentração de tangeritina.



Figura 8.7 - Superfície de resposta do percentual de nobiletina do processo de evaporação a 2 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação.

Tabela 8.14 -	ANOVA da r	nobiletina	(20 mbar)	desconsiderando	o os efeitos	que não
foram significa	tivos no pro	cesso (p <	(0,1).			

Fonte de variação	SQ*	GL**	MQ***	F _{calculado}	F _{tabelado}
Regressão	0,819	2	0,410	47,79	2,70
Resíduo	0,129	15	0,009		
Falta de ajuste	0,120	12	0,010	3,71	5,22
Erro puro	0,008	3	0,003		
Total	0,948	17			
% de variação explicada (R ²)	86,40%				
% máximo de variação explicável	99,14%				
*00 0 1 / 11					

*SQ – Soma Quadrática

**GL – Graus de Liberdade

***MQ – Média Quadrática

Quanto ao processo de evaporação realizado a 20 mbar, o primeiro $F_{calculado}$ foi 17,73 vezes superior ao $F_{tabelado}$ e o segundo $F_{calculado}$, menor que o

 $F_{tabelado}$ (3,71 < 5,22), demonstrando que o modelo, além de se ajustar bem aos dados experimentais, foi preditivo.



Figura 8.8 - Superfície de resposta do percentual de nobiletina do processo de evaporação a 20 mbar em função da temperatura de evaporação e da vazão de alimentação.

As superfícies representam a influência das variáveis independentes sobre a variável resposta (concentração de nobiletina (%)), as mesmas indicaram que houve um aumento na concentração de nobiletina (processo de evaporação a 2 e 20 mbar) com o aumento da temperatura de evaporação. A região de máximo está situada na área mais escura do gráfico, a qual representa a condição experimental ótima para a realização do processo de evaporação proposto.

De uma maneira geral, os principais fatores que influenciam na destilação molecular incluem temperatura de evaporação, pressão de operação e vazão de alimentação, das quais a temperatura de evaporação e a pressão são as mais importantes (Guo *et al.*, 2010).

8.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

Como apresentado neste Capítulo, os flavonoides presentes no óleo de laranja foram concentrados na fração residual resultante do fracionamento do óleo de laranja. Nas condições estudadas, a temperatura do evaporador de 120ºC foi a melhor temperatura para concentrar tangeritina e nobiletina.

A presença dessas polimetoxiflavonas (tangeritina e nobiletina) foi confirmada apenas na corrente resíduo, pois trata-se de uma fração residual resultante do tipo de processo empregado na extração do óleo de laranja (prensagem a frio).

CAPÍTULO 9 -CONCLUSÕES

De maneira geral, **óleo de laranja doce** possui boas características para ser fracionado utilizando-se o sistema híbrido de evaporação. O **sistema híbrido de evaporação** mostrou-se como um processo promissor no fracionamento do óleo de laranja doce por apresentar bons **rendimentos** e condições operacionais satisfatórias ao final do processo e por não utilizar solventes.

A corrente destilado apresentou as maiores concentrações de **limoneno** (98,91%) quando se trabalhou a 20 mbar e com temperatura do evaporador de 50°C. Porém, limoneno também esteve presente nas correntes lateral (99,48%) a 2 mbar e resíduo (1,11%) a 2 e 20 mbar, sendo que na corrente resíduo apresentando as menores quantidades.

Os compostos **valenceno** e **decanal** foram quantificados nas correntes resíduo (valenceno) e, lateral e resíduo (decanal), sendo que seus maiores valores foram obtidos a 2 mbar. Decanal e valenceno presentes na corrente resíduo mostraram maiores quantidades a 50°C (temperatura do evaporador). O decanal presente na corrente lateral obteve a maior quantidade a 120°C (temperatura do evaporador) (1,19% para o valenceno e, para o decanal 1,24% na corrente lateral e 2,97% na corrente resíduo).

Os flavonoides **tangeritina** e **nobiletina** foram concentrados apenas na corrente resíduo com as maiores concentrações visualizadas a 2 mbar e temperatura do evaporador de 120°C (3,35% para a tangeritina e 0,72% para a nobiletina). Os flavonóides não concentraram nas correntes destilado e lateral do processo.

149

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS:

- Desenvolver método cromatográfico para a quantificação de todos os flavonoides presentes no óleo;
- ✓ Proceder com redestilações para aumentar a concentração dos componentes de interesse;
- ✓ Quantificar os componentes da fração volátil do óleo de laranja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, M. M.; REHMAN, S.; IQBAL, Z.; ANJUM, F. M.; SULTAN, J. I. Genetic variability to essential oil composition in four citrus fruit species. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 38, n. 2, p. 319-324, 2006.

ALMEIDA, C. O.; PASSOS, O. S. **Citricultura brasileira em busca de novos rumos - Desafios e oportunidades na região Nordeste**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 2011. 160p. Disponível em: http://livraria.sct.embrapa.br/liv_resumos/pdf/00083440.pdf> Acesso em: 12 de novembro de 2013 (17:05h).

ASAMI, Y.; HORIE, R.; HAMAMOTO, H.; SEKIMIZU, K. Use of silkworms for identification of drugcandidates having appropriate pharmacokineticsfrom plant sources.**BMCPharmacology**, v.10, n.7, p.1-6, 2010.

ASHOK KUMAR, K.; NARAYANI, M.; SUBANTHINI, A.; JAYAKUMAR, M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels – utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology -IJEST**, Singapore, v. 3, n. 6, p. 5414-21, jun. 2011.

ATTAWAY,J.A. in: HUANG,M.T.; OSAWA,T.; HO,C.T.; ROSEN,R.T. (Eds.). Food **Phytochemicals for Cancer Prevention I (Fruits and Vegetables)**.ACS Symposium Series 546, American Chemical Society, Washington, DC, p.240-248.1994.

BAGETTA, G.; MORRONE, L. A.; ROMBOLÀ, L.; AMANTEA, D.; RUSSO, R.; BERLIOCCHI, L.; SAKURADA, S.; SAKURADA, T.; ROTIROTI, D.; CORASANITI, M. T.Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. **Fitoterapia**, v.81, n.6, p.453-461, 2010.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, n.1, p.191-203, 2006.

BANDONI, A. L.; CZEPACK, M. P. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil.Vitoria: Edufes, 2008. 624p.

BARATTA, M. T.; DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G.; BIONDI, D. M.; RUBERTO, G. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage,rosemary, oregano and coriander essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v.10, p.618-627, 1998.

BEECHER,G. R.**Flavonoids in Foods in Antioxidant Food Supplements in Human Health**. Edited by Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. Hardbound: *Academic press*; 1999. BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J.; MARIN, F. R.; ORTUÑO, A.; DEL RÍO, J. A. Uses and properties of citrus flavonoids. **Journalof Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.12, p.4505-4515, 1997.

BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J. Update on uses and properties of *citrus* flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6185-6205, 2008.

BENELLI, P. Agregação de valor ao bagaço de laranja (*citrus sinensis* L. osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de SantaCatarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação emEngenharia de Alimentos. 2010. 233p.

BENETI, S.C.; ROSSET, E.; CORAZZA, M.L.; FRIZZO, C.D.; LUCCIO, M.D.; OLIVEIRA, J.V. Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation. **Journal Food Eng**, v.102, p.348-354, 2011.

BICAS, J. L. Estudos de obtenção de bioaromas pela biotransformação de compostos terpênicos. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos. 2009. 207p.

BISIGNANO, G.; SAIJA, A. The biological activity of citrus oils. In: DUGO, G.; DI GIACOMO, A. (Eds.). **Citrus: the Genus Citrus**. Boca Raton: CRC Press, 2002, cap.28, p.602-630, 642 p.

BIZZO, H.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo. v.32, n.3, p.588-594, 2009.

BOCCO, A.; CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.6, p.2123-2129,1998.

BORGMANN, S.; NIKLAS, D. M.; KLARE, I.; ZABEL, L. T.; BUCHENAU, P.; AUTENRIETH, I. B. Two episodes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* outbreakscaused by two genetically different clones in a newborn intensive care unit.**International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.207, n.4, p.386-389,2004.

BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M.**Radical chemistry of flavonoids antioxidant**. In: Emerit, I. (Ed.), Antioxidants in Therapy and PreventiveMedicine, vol. 1. Plenum press, New York, p.165-170.1990a.

BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M.**Flavonoids as antioxidants:** determination of radical scavenging efficiencies. In: PACKER, L.; GLAZER, A.N. (Eds.), Methods in Enzymology, v. 186. CA: Academic press, San Diego. p.343-356.1990b.

BROCK, J.; NOGUEIRA M.; ZAKRZEVSKI, C.; CORAZZA, F.; CORAZZA. M. L.; OLIVEIRA, J. V. Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.564-570, 2008.

CACCIONI, D. R. L.; GUIZZARDI, M.; BIONDI, D. M.; RENDA, A.; RUBERTO, G. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, n. 1-2, p. 73-79, 1998.

CALOMME,M.; PIETERS,L.; VLIETINCK,A.; BERGHE,D.V. Inhibition of Bacterial Mutagenesis by Citrus Flavonoids.**Planta Medica**,v.62, n.3,p.222-226,1996.

CARMO, E. S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L. The potential of origanum vulgare I. (lamiaceae) essential oil in inhibitingthe growth of some food-related aspergillus species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, n.2, p.362-367, 2008.

http://www.ceasacampinas.com.br/novo/Serv_padro_Laranja.asp acesso em 18/09/2014 as 09:52h.

CHEMAT, F.; TOMAO, V.;VIROT, M.**Ultrasound-assisted extraction in food analysis**. In Handbook of food analysis instruments by Semih Ötles.Boca Raton, Florida, USA: CRC press. p.85-103,2008.

CHEN, J.; MONTANARI, A. M.; WIDMER, W. W. Two new polymethoxylated flavones, aclass of compounds with potential anticancer activity, isolated fromcold pressed dancy tangerine peel in solids. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.364-368, 1997.

CHOI, H.; SONG, H. S.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Radical- Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 9, p. 4156-4161, 2000.

CHON, R.; CHON, A. L. Subprodutos del procesado de las frutas. In: ARTHEY, D; ASHURST, P. R. (Eds.). **Procesado de Frutas**. Zaragoza: Acribia, 1997. 273 p.

CHUTIA, M.; BHUYAN, P. D.; PATHAK, M. G.; SARMA, T. C.; BORUAH, P. Antifungalactivity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oilagainst phytopathogens from North East India. **Food Science and Technology**, v.42, p.777-780, 2009.

COGGINS JR., C. W.; SCORA, R. W.; LEWIS, L. N.; KNAPP, J. C. F.Gibberellindelayed senescence and essential oil changes in the Navel orange rind. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.17, n.4, p.807-809, 1969.

COMELLI, F.; FRANCESCONI, R.; CASTELLARI, C. Densities, Viscosities, and Excess Molar Enthalpies of Binary Mixtures Containing Essential Oils at (298.15 and 313.15) K. The (*S*)-(-)-Limonene + Cineole, (*S*)-(-)-Limonene + Linalool, and Cineole + Linalool Systems. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v.46, n.4, p.868-872, 2001.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Segunda estimativa da safra de laranja 2013-2014.

CORAZZA, S. R. Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros. Editora SENAC: São Paulo, 2002.

CROWELL, P. L. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. **Journal of Nutrition**, v.129, p.775-778, 1999.

CVENGROŠ, J.; MICOV, M.; LUTIŠAN, J. Modelling of fractionation in a molecular evaporator with divided condenser. **Chem Eng Proc**, v.39, p.191-199, 2000.

DABBAH, R.; EDWARDS, V. M.; MOATS, W. A. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. **Applied Microbiology**, Washington, v. 19, n. 1, p. 27-31, jan. 1970.

DANDAN, W.; JIAN, W.; XUEHUI, H.; YING, T.; KUNYI, N. Identification of polymethoxylated flavones from green tangerine peel(*Pericarpium Citri Reticulatae Viride*) by chromatographic and spectroscopic techniques.**Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.44, p.63-69, 2007.

DARROS-BARBOSA, R.; CURTOLO, J. E. Produção industrial de suco e subprodutos cítricos. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Orgs.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico; Fapesp, 2005. cap. 28, p. 839-870.

DEL RIO, J. A.; ORTUNO, A.; GARCIA-PUIG, D.; PORRAS, I.; GARCIA-LIDON, A.; SABATER, F. Variations of nootkatone and valencene levels during the development of grapefruit. **JournalofAgriculturalandFoodChemistry**,v.40, n.9,p.1488-1490, 1992.

DE PASQUALE, F.; SIRAGUSA, M.; ABBATE, L.; TUSA, N.; DE PASQUALE, C.; ALONZO, G. Characterization of five sour orange clones through molecular markersand leaf essential oils analysis. **ScientiaHorticulturae**, v.109, p.54-59, 2006.

DE WHALLEY, C. V.; RANKIN, S. M.; HOULT, J. R.; JESSUP, W.; LEAKE, D. S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins bymacrophages. **BiochemicalPharmacology**, v.39, n.11, p.1743-1750, 1990.

DUGO, G. Perf & Flav, v.16, p.17-34, 1994.

DUGO, G.; VERZERA, A.; STAGNO, Y.; COTRONEO, A.; TROZZI, A.; MONDELLO, L.**J Essent Oil Res**, v.6, p.101-137, 1994.

DURR, P.; SCHOBINGER, U. In Flavour'81. The Contribution of Some Volatiles to the Sensory Quality of Apple and Orange Juice Odour, Schreier P (ed.). Walter de Gruyter: Berlin, 1981; 179–194.

ELSTON,A.; LIN,J.; ROUSEFF,R.Determination of the role of valencene in orange oil as a direct contributor to aroma quality. **FlavourandFragranceJournal**, v.20, p.381-386, 2005.

ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; PAGÁN, R.Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, v.22,p.896-902, 2011.

EVERS, D. L.; CHAO, C. F.; WANG, X.; ZHANG, Z.; HUONG, S. M.; HUANG, E. S.Human cytomegalovirus-inhibitory flavonoids: studies on antiviral activity and mechanism of action. **AntiviralResearch**, v.68, n.3, p.124-134, 2005.

EZEJIOFOR, T. I.N.; EKE, N. V.; OKECHUKWU, R. I.; NWOGUIKPE, R. N.; DURU, C. M.Waste to wealth: Industrial raw materials potential ofpeels of Nigerian sweet orange (*Citrus sinensis*). African Journal of Biotechnology, v.10, n.33, p.6257-6264, 2011.

FANG, T.; GOTO, M.; SASAKI, M.; HIROSE, T. Combination of supercritical CO₂ and vacuumdistillation for the fractionation of bergamot oil. **Journal Agric Food Chem**, v.52, p.5162-5167, 2009.

FERHAT, M. A.; MEKLATI, B. Y.; SMADJA, J.; CHEMAT, F. An improved microwaveClevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. **Journal of Chromatography A**, v.1112, p.121-126, 2006.

FERHAT,M. A.;MEKLATI,B. Y.; CHEMAT,F.Comparison of different isolation methods of essentialoil from *Citrus* fruits: cold pressing, hydrodistillationand microwave 'dry' distillation. **Flavour and Fragrance Journal**, v.22, p.494-504, 2007.

FERNANDES, I. A. oxidação de valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando complexos biomiméticos. Dissertação de mestrado.

Universidade Integrada do Alto Uruguai e das Missões/URI – Campus Erechim, RS – Brasil, 2009.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus an answer? **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 156-164, 2008.

FLAMINI, G.; TEBANO, M.; CIONI, P. L. Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon*.**Analytica Chimica Acta**, v.589, n.1, p.120-124, 2007.

FLÉGNER, F. L. Aromaterapia para iniciantes. Disponível em: Acesso">http://www.laszlo.ind.br/>Acesso em: fev. 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAOSTAT – FAO Statistics Division/ Production: About (country by commodities)**. Roma: FAO, 2011. Disponível em: http://faostat.fao.org/. Acesso em: 10 jun. 2011.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (2005). *GRAS* notifications. Retrieved 28.06.10">http://www.fda.gov>Retrieved 28.06.10.

FONTANILLE, P. Biotransformation de α -pinene oxyde en cis-2-methyl-5isopropylhexa-2,5-dienal (isonovalal) par *Pseudomonas rhodesiae* CIP 107491.Clermont-Ferrand, France: Université Blaise Pascal, 2002 (Tese – Doutorado)

FRIEDMANN, M.; HENIKA, P. R.; LEVIN, C. E.; MANDRELL, R. E. Antibacterial Activities of Plant Essential Oils and Their Components against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica in Apple Juice. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 19, p. 6042-6048, 2004.

FURUSAWA, M.; HASHIMOTO, T.; NOMA, Y.; ASAKAWA, Y. Biotransformation of citrus aromatics nootkatone and valencene by microorganisms. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.53, n.11, p.1423-1429, 2005.

GANZLER, K.; SALGO, A.; VALKO, K. Microwave extraction. A novel sample preparation method for chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.371, p.299-306, 1986.

GARGANO, A. C. Estudo da atividade ansiolítica e sedativa do óleo essencial das cascas de frutos de espécies do gênero Citrus. Dissertação de Mestrado, UNESP, São Paulo, 2007.

GAYDOU, E. M.; BIANCHINI, J. P.; RANDRIAMIHARISOA, R. P. Orange and mandarin peel oils differentiation using polymethoxylated flavone composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, n.4, p.525-529, 1987.

GELSLEISTER,K. B.; MORAES,J. O.; CARCIOFI,B. A. M. Caracterização físicoquímica do óleoessencial bruto de tangerina. XIX CongressoBrasileiro deEngenharia Química. Búzios – RJ, 2012.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S.; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Braz. J. Food Technol**, IV SSA, p.11-17, 2012.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. – The function of terpene natural products in thenatural world. **Nature Chemical Biology**,v.3,n.7, p.408-414, 2007.

GIRENNAVAR, B.; CEPEDA, M. L.; SONI, K. A.; VIKRAM, A.; JESUDHASAN, P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; PILLAI, S. D.; PATIL, B. S. Grapefruit juice and its furocoumarins inhibits autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 125, n. 2, p. 204-208, 2008.

GOLDSWORTHY, L. J.; ROBINSON, R. A synthesis of tangeritin. **Journal of the Chemical Society**, p.46-49, 1937.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. Vol. III. Robert E. KREIGER Publishing Company, New York, 1974. GUENTHER, E.; ALTHAUSEN, D.; STERRETT, F. S. **The Essential Oils**. Krieger Publishing Company, I, II, Florida, USA. 1975.

GUO, X. J.; WANG, S. R.; GUO, Z. G.; LIU, Q.; LUO, Z. Y.; CEN, K.Pyrolysis characteristics of bio-oil fractions separated by molecular distillation. **Applied Energy**, v.87, n.9, p.2892-2898, 2010.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C.A.Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, p.481-504, 2000.

HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H. L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOM, T.; POL, I.; SMID, E. J.; et al. Characterization of the action of selected essential oil componentson gram-negative bacteria. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, p.3590-3595, 1998.

HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E.J.M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study.**Lancet**, v.342, n.8878,p.1007-1011,1993.

HIRANO, T.; ABE, K.; GOTOH,M.; OKA,K. Citrus flavone tangeretin inhibits leukaemic HL-60 cell growth partially through induction of apoptosis with less cytotoxicity on normal lymphocytes.**British Journal of Cancer**,v.72, n.6, p.1380-1388, 1995.

HÖGNADÓTTIR, Á.; ROUSEFF, R. L.Identification of aroma active compounds in orange essence oilusing gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.998, p.201-211, 2003.

HOSNI, K.; ZAHED, N.; CHRIF, R.; ABID, I.; MEDFEI, W.; KALLEL, M.; BRAHIM, N. B.; SEBEI, H.Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. **FoodChemistry**, v.123, p.1098-1104, 2010.

HUET, R. Constituents of citrus fruits with pharmacodynamiceffect: citroflavonoids. **Fruits**, v.37, p.267-271, 1982.

IEA - INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Análises e Indicadores do Agronegócio. Previsões e estimativas das safras agrícolas do estado de São Paulo, ano agrícola 2012/13, intenção de plantio, e levantamento final, ano agrícola 2011/12, setembro de 2012, v. 7, n. 11, Nov., 2012. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/AIA/AIA-62-2012.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2013.

JEONG, S. M.; KIM, S. Y.; KIM, D. R.; JO, S. C.; NAM, K. C.; AHN, D. U.; LEE, S. C. Effect ofheat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.11,p.3389-3393,2004.

JIANG, M. H.; YANG, L.; ZHU, L.; PIAO, J. H.; Jiang, J. G.Comparative GC/MS analysis of essential oils extracted by 3 methods from the bud of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl.**Journal of Food Science**, v.76, n.9, p.C1219-C1225, 2011.

KAWAII, S.; TOMONO, Y.; KATASE, E.; OGAWA, K.; YANO, M.Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.63, p.896-899, 1999.

KAWAII, S.; TOMONO, Y.; KATASE, E.; OGAWA, K.; YANO, M. Effect of citrus flavonoids on HL-60 cell differentiation. **Anticancer Research**, v.19, n.2A, p.1261-1269, 1999.

KAWALA, Z.; STEPHAN, K. Evaporation rate and separation factor of molecular distillation in a falling film apparatus. Chem Eng Technol, v.12, p.406-413, 1989.

KESTERSON, J. N.; HENDRICKSON, R. American Perfumery and Cosmetics, v.77, p.21-24, 1962.

KOTACHI S, UEDA J, TANAKA S. KAO Corporation: Process for Preparing Orange Oil. 2003; 20030203090.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; et al. Bioactive compounds in foods: Their role

in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v.113, p.71-88, 2002.

KUROWSKA, E. M.; MANTHEY, J. A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-inducedhypercholesterolemia. **JournalofAgriculturalFoodChemistry**, v.52, n.10, p.2879-2886, 2004.

LEE, Y. S.; CHA, B. Y.; SAITO, K.; YAMAKAWA, H.; CHOI, S. S.; YAMAGUCHI, K.; YONEZAWA, T.; TERUYA, T.; NAGAI, K.; WOO, J. T. Nobiletin improves hyperglycemia and insulin resistance in obesediabetic ob/ob mice. **BiochemicalPharmacology**, v.79, n.11, p.1674-1683, 2010.

LI, B. B.; SMITH, B.; HOSSAIN, M. M. Extraction of phenolics from citruspeels: II. Enzyme-assisted extraction method. **Separation and Purification Technology**, v.48, n.2,p.189-196,2006a.

LI, B. B.; SMITH, B.; HOSSAIN, M. M. Extraction of phenolics from citruspeels: I. Solvent extraction method. **Separation and Purification Technology**, v.48, n.2, p.182-188, 2006b.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v.37, p.731-738, 2004.

LI, R. W.; THERIAULT, A. G.; AU, K.; DOUGLAS, T. D.; CASASCHI, A.; KUROWSKA, E. M.; MUKHERJEE, R.Citruspolymethoxylated flavones improve lipid and glucosehomeostasis and modulateadipokines in fructose-induced insulin resistant hamsters. **LifeSciences**, v.79, n.4, p.365-373,2006.

LI, S.; LAMBROS, T.; WANG, Z.; GOODNOW, R.; HO, C. T. Efficient and scalable method in isolation of polymethoxyflavones fromorange peel extract by supercritical fluid chromatography.**Journal of Chromatography B**, 846, p.291-297, 2007.

LIN, C. M.; SHEU, S. R.; HSU, S. C.; TSAI, Y. H.Determination of bactericidal efficacy of essential oil extracted from orange peelon the food contact surfaces. **FoodControl**, v.21, p.1710-1715, 2010.

LIN, J. M.; ROUSEFF, R. L. Characterization of aroma-impact compounds in coldpressed grapefruit oil using time-intensity GC-olfactometry and GC-MS. **Flavour Fragr. Journal**, v.16, p.457-463, 2001.

LIS-BALCHIN, M.; HART, S. Studies on the mode of action of the essential oil of lavender. **Phytother. Res.**, v.13, p.540-542, 1999.

LIU, K.; CHEN, Q.; LIU, Y.; ZHOU, X.; WANG, X. Isolation and biological activities of decanal, linalool, valencene, and octanal from sweet orange oil. **Journal of Food Science**, v.77, n.11, p.C1156-C1161, 2012.

LIU, L.; XU, X.; CHENG, D.; YAO, X.; PAN, S. Structure-Activity relationship of Citrus polymethoxylated flavones and their inhibitory effects on *Aspergillus niger*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 12, p. 4336-4341, 2012.

LOPES, D.; RAGA, A. C.; STUART, G. R.; OLIVEIRA, J. V. Influence of vacuum distillationparameters on the chemical composition of a 5-fold sweet orange oil (Citrussinensis Osbeck). **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.408-411, 2003.

LUCCHESI, M. E.; CHEMAT, F.; SMADJA, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A**, v.1043, p.323-327, 2004.

LÜCKER, J.; BOWEN, P.; BOHLMANN, J.Vitis vinifera terpenoid cyclases: functionalidentification of two sesquiterpene synthase cDNAs encoding (+)valencenesynthase and (-)-germacrene D synthase and expression of monoandsesquiterpene synthases in grapevine flowers and berries. **Phytochemistry**,v.65, n.19, p.2649-2659, 2004.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; JIMÉNEZ-CARMONA, M. M.; FERNÁNDEZ-PÉREZ, V. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. **Trends in Analytical Chemistry**, v.18, p.708-716, 1999.

LV, Y. X.; ZHAO, S. P.; ZHANG, J. Y.; ZHANG, H.; XIE, Z. H.; CAI, G. M.; Jiang, W. H. Effect of orange peel essential oil on oxidative stress in AOM animals. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.50, p.1144-1150, 2012.

MA, Y.; YE, X.; HAO, Y.; XU, G.; LIU, D. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrusreticulata*) peel. **UltrasonicsSonochemistry**, v.15, n.3, p.227-232, 2008.

MABRY, T. J.; MARKHAN, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification** of flavonoids. New York: Springer, 1970. 354p.

MABRY, T. J.; ULUBELEN, A. Chemistry and Utilization of Phenylpropanoids Including Flavonoids, Coumarins and Lignans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 28, n. 2, p. 188-196, 1980.

MANTHEY, J.A. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of the polymethoxylated flavone content of orange oil residues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.3215-3218, 2006.

MANTHEY, J. A. Fractionation of orange peel phenols in ultra-filtered molasses and mass balance studies of their antioxidant levels. **J. Agric. Food Chem.**, v.52,p.7586-7592,2004.

MANTHEY, J. A.; GROHMANN, K.; MONTANARI, A.; ASH, K.; MANTHEY,C. L. Polymethoxylated flavones derived from citrus suppresstumor necrosis factor-R expression by human monocytes. **J. Nat. Prod.**, v.62, p.441-444, 1999.

MANTHEY, J.A.; GUTHRIE,N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines.**Journal of Agricultural and Food Chemistry**,v.50, n.21,p.5837-5843, 2002.

MANTHEY, J. A.; GUTHRIE, N.; GROHMANN, K. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. **Current Medicinal Chemistry**, v.8, p.135-153, 2001.

MARTINS, P. F.; CARMONA, C.; MARTINEZ, E. L.; SBAITE, P.; MACIEL FILHO, R.; WOLF MACIEL, M. R. Evaluation of methyl chavicol concentration by different evaporation processes using central composite experimental design. **Separation and Purification Technology**, v.98, p.464-471, 2012a.

MARTINS, P. F.; CARMONA, C.; MARTINEZ, E. L.; SBAITE, P.; MACIEL FILHO, R.; WOLF MACIEL, M. R. Short path evaporation for methyl chavicol enrichment from basil essential oil. **Separation and Purification Technology**, v.87, n., p.71-78, 2012c.

MARTINS, P. F.; MARTINEZ, E. L.; SBAITE, P.; MACIEL FILHO, R.; WOLF MACIEL, M. R. Effect of operating conditions for methyl chavicol separation using a hybrid evaporation system. **Procedia Engineering**, v.42, p.501-511. In CHISA, 20th International Congress of Chemical and Process Engineering, 2012b.

MARTINS, P. F.; MEDEIROS, H. H. R.; SBAITE, P.; WOLF MACIEL, M. R. Enrichment of oxyterpenes from orange oil by short path evaporation. **Separation and Purification Technology**, v.116, n., p.385-390, 2013.

MARTINS, P. F.; SBAITE, P.; BENITES, C. and MACIEL, M. R. W. Thermal characterization of orange, lemongrass, and basil essencial oils.**Chemical Engineering Transactions**, v.24, p.463-468, 2011.

MARTINS, S.; MUSSATTO, S. I.; AVILA, G. M.; SAENZ, J. M.; AGUILAR, C. N.; TEIXEIRA, J. A. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solidstate fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v.29, n.3 p. 365-373, 2011.

MARUYAMA, T.; ITO, M.; HONDA, G. Molecular cloning, functional expression and characterization of (E)-β-farnesene synthase from citrus junos.**Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.24, p.1171-1175, 2001.

MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JÚNIOR, J. *Citros: principais informações e recomendações de cultivo*. 2005. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Citros/Citros.htm. Acesso em: fev. 2010.

McCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. Unit Operations in Chemical Engineering. 5th ed., Singapore: Mc Graw Hill; 1993.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of theessential oil of Lippia gracilis leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, n.3, p.391-397, 2010.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.**The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer**. In The flavonoids: advances in research since 1986. Edited by Harborne JB: Chapman & Hall, London, p.619-652.1993.

MITTAL,A.; SINGH,G.; GOYAL,V.; YADAV,A.; AGGARWAL,N. K. Production of phytase byacido-thermophilic strain of Klebsiella sp. DB-3FJ711774 using orange peel flour undersubmerged fermentation.**InnovativeRomanianFoodBiotechnology**,v.10, p.18-27,2012.

MIRA, B.; BLASCO, M.; SUBIRATS, S.; BERNA, A. Supercritical CO2 extraction of essential oils from orange peel. *J. of Supercritical Fluids*, v. 9(4), p. 238-243, 1996.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. Food Technology. 1986; 40: 100–103.

MOULY,P.; GAYDOU, E. M.; AUFFRAY,A. Simultaneous separation of flavanone glycosides andpolymethoxylated flavones in citrus juices using liquidchromatography.**Journal of Chromatography A**, v.800, p.171-179, 1998.

MUKHERJEE, P. K.; VENKATESH, M.; GANTAIT, A. Ayurveda in modern medicine:development and modification of bioactivity. In: MANDER,L.;LIU, H. W. Comprehensive natural products II. Hardbound: Elsevier. Chap. 3.14, p.479-507, 2010.

NAGATA, U.; SAKAMOTO, K.; SHIRATSUCHI, H.; ISHI, T.; YANO, M.; OHTA, H. Flavonoidcomposition of fruit tissues of citrus species. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.70, p.178-192,2006.

NAGY,S.; SHAW,P.E.; VEIDHAIS,M.K. **Citrus Science and Technology**, v.1, The Avi Publishing Company, Inc., Bridgeport, p.397-426.1977.

NANNAPANENI, R.; CHALOVA, V. I.; CRANDALL, P. G.; RICKE, S. C.; JOHNSON, M. G.; O'BRYAN, C. A. Campylobacter and Arcobacter species

sensitivity tocommercial orange oil fractions. InternationalJournalofFoodMicrobiology, v.129,n.1, p.43-49, 2009.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira. Elaboração: Markestrat - Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia. Disponível em http://www.citrusbr.com/download/Retrato_Citricultura_Brasileira_MarcosFavapdf Acesso em: 27 de setembro de 2013 (14:31h)

NICNAS (National Industrial Chemical Notification and Assessment Scheme). Limonene: Priority Existing Chemical Assessment Report Nº 22, Austrália, 2002, 131p. http://www.nicnas.gov.au/data/assets/pdf_file/PEC22_Limonene_pdf Acesso em: 06 de dezembro de 2013 (16:30h)

OKOH, O. O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of theantibacterial activities of the essential oils of Rosmarinus officinalis L. obtained byhydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **FoodChemistry**, v.125, n.120, p.308-312, 2010.

OKWU, D. E.; EMENIKE, I. N. (2006). Evaluation of the phyto-nutrients and vitamins content of citrus fruits. Int. J. Mol. Med. Adv. Sci. 2: 1-6.

OLIVEIRA, J.V.; STUART, G.R.; LOPES, D. Deterpenation of Brazilian orange peel oilby vacuum distillation. **Journal of American Oil Chemists Society**, v.78, p.1041-1044, 2001.

OLIVEIRA, R. P.; EPIFÂNIO, N. B.; SCIVITTARO, W. B. A nova citricultura na fronteira oeste do Rio Grande do Sul. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CITRICULTURA DO RIO GRANDE DO SUL, 2008, Alpestre. **Anais**Alpestre: EMATER-RS, 2008. p. 60-66.

ORTIZ, J. M. Botany: taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers. In: DUGO, G.; DI GIACOMO, A. (Eds.). **Citrus: the Genus Citrus**. Boca Raton: CRC Press, 2002. 642 p.

PADILLA, E.; RUIZ, E.; REDONDO, S.; GORDILLO-MOSCOSO, A.; SLOWING, K.; TEJERINA, T. Relationship between vasodilation capacity and phenolic content of Spanish wines. **European Journal of Pharmacology**, v.517, p.84-91, 2005.

PADUCH, R. et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v.55, n.5, p.315-327, 2007.

PAKDELA, H.; PANTEAA, D.; ROY, C. Production of d-limonene by vacuum pyrolysis of used tires. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.57, n.1, p.91-107, 2001.

PATIL, J. R.; CHIDAMBARA MURTHY, K. N.; JAYAPRAKASHA, G. K.; CHETTI, M. B.; PATIL, B. S. Bioactive Compounds from Mexican Lime (Citrus aurantifolia) Juice Induce Apoptosis in Human Pancreatic Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 10933-10942, 2009.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. *J. Technol. Manag. Innov.*, v. 2 (1), p.118-27, mar. 2007.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **NutritionResearch**, v.18, p.1995-2018, 1998.

http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/laranja/laranja-6.php

PULTRINI, A. D. M.; GALINDO, L. A. I.; COSTA, M. Effects of the essential oilfrom Citrus aurantium L. In experimental anxiety models in mice. **Life Sciences**, v.78, p.1720-1725, 2006.

QIAN, C.; DECKER, E.; XIAO, H.; McCLEMENTS, D. Comparison of biopolymeremulsifier performance in formation and stabilization of orange oil-in-wateremulsions. Journal of the American Oil Chemists' Society, v.88, p.47-55,2010.

RAEISSI, S.; DIAZ, S.; ESPINOSA, S.; PETERS, C. J.; BRIGNOLE, E. A. Ethane as analternative solvent for supercritical extraction of orange peel oils. **Journal of Supercritical Fluids**, v.45, p.306-313, 2008.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leafessential oil from Clausena dentata (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against thechikungunya vector, Aedes aegypti Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.13, p.107-109, 2010.

REHMAN, Z. Citrus peel extract – A natural source of antioxidant. **Food Chemistry**, v.99, p.450-454, 2006.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. **Chemistry, Nutrition and Biotechnology**, Marcel Dekker, New York, p.423-448,1998.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **Journal of Supercritical Fluids**, v.10, p.1-37, 1997.

REZZOUG, S. A.; MAACHE-REZZOUG, Z.; MAZOYER, J.; JEANNIN, M.; ALLAF, K. Effect of instantaneous controlled pressure drop process on the hydration capacity of scleroglucan: optimisation of operating conditions by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.73-84, 2000.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v.2, n.4, 1997.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure–antioxidant activityrelationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

Rich, TF. The Procter & Gamble Company: Cincinnati, OH. Orange Stripper Essence and Stripper Oil Having High Ratios of More Desirable to Less Desirable Flavor Compounds. Patente número: 4,973,485. 1990.

ROGER, G. D. P. (2002). Education and health library (editorial). Encycloped. Medicinal Plants. Safeliz SL. Spain 1: 153-154, 265-267.

ROUSEFF, R.L.; TING, S.V. Quantitation of polymethoxylated flavones in orangejuice by high-performance liquid chromatography.**Journal of Chromatography A**,v.176, n.1, p.75-87, 1979.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oilcomponents in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v.69, p.167-174, 2000.

SAHRAOUI, N.; VIAN, M. A.; EL MAATAOUI, M.; BOUTEKEDJIRET, C.; CHEMAT, F. Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.12, n.2, p. 163-170, 2011.

SALES-CRUZ, M.; GANI, R. Computer-aided modelling of short-path evaporation for chemical product purification, analysis and design. **Chemical Engineering Research and Design**, v.84, n.A7, p.583-594, 2006.

SANTOS, A. C. A., SERAFINI, L. A., CASSEL, E. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p.19-29, 2003.

SAWAMURA, M. Volatile components of essential oils of the *Citrus* genus. In **Recent Research and Development in Agricultural and Food Chemistry**, Pandalai SG (ed.) Research Signpost: Trivandrum, v.4, p.131-164, 2000.

SENDRA, J. M.; NAVARRO, J. L.; IZQUIERDO, L. C18 solid-phase isolationand high-performance liquid chromatography/ultraviolet diode arraydetermination of fully methoxylated flavones in citrus juices. **Journal of Chromatographic Science**, v.26, 443-448, 1988.

SENEVIRATHNE, M.; JEON, Y. J.; HA, J. H.; KIM, S. H. Effective drying of citrusby-product by high speed drying: a novel drying technique and theirantioxidant activity. **Journal of Food Engineering**, v.92, p.157-163,2009.

SHAFFER, G. W.; ESCHINASI, E. H.; PURZYCKI, K.L.; DOERR, A. B.Oxidations of valencene. **Journal of Organic Chemistry**,v.40, n.15,p.2181-2185, 1975. SHANOON, E. M.; MILILLO, S. R.; JOHNSON, M. G.; RICKE, S. C. Efficacy of cold-pressed terpeneless valencia oil and its primary components on inhibition of *Listeria* species by direct contact and exposure to vapors. **Journal of Food Science**, v.76, n.7, p.M500-M503, 2011.

SHARON-ASA, L.; SHALIT, M.; FRYDMAN, A.;BAR, E.; HOLLAND, D.; OR, E.; LAVI, U.; LEWINSOHN, E.; EYAL, Y. Citrus fruit flavor and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and developmental regulation of Cstps1, a key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene. **The Plant Journal**, v.36, n.5, p.664-674, 2003.

SHAW, P. E.; COLEMAN, R. L.Quantitative composition of cold-pressed orange oils.**Journal of Agricultural and Food Chemistry**,v.22, n.5,p.785-787, 1974.

SHAW, P. E. Review of quantitative analyses of citrus essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, n.2, p.246-257, 1979.

SHEN, Z.; MISHRA, V.; IMISON, B.; PALMER, M.; FAIRCLOUGH, R. Use of Adsorbent and Supercritical Carbon Dioxide ToConcentrate Flavor Compounds from Orange Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.1, p.154-160, 2002.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from Casearia sylvestris Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazônica**, v.38, n.1, 2008.

SISKOS, E. P.; MAZOMENOS, B. E.; KONSTANTOPOULOU, M. A. Isolation and identification of insecticidal components from *Citrus aurantium* fruit peel extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 14, p. 5577-5581, 2008.

SMITH, D. C.; FORLAND, S.; BACHANOS, E.; MATEJKA, M.; BARRETT, V.Qualitativeanalysis of citrus fruit extracts by GC/MS: an undergraduate experiment. **TheChemicalEducator**, v.6,n.1, p.28-31,2001.

SOWDEN, R. J.; YASMIN, S.; REES, N.H.; BELL, S. G.; WONG, L.L. Biotransformation of the sesquiterpene (+)-valencene by cytochrome P450cam and P450BM-3.**Organic and Biomolecular Chemistry Oxford**, v.3, n.1, p.57-64, 2005.

STANLEY, W.; JURD, L. Citrus Coumarins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 19, n. 6, p. 1106-1110, 1971.

STASHENKO, E. E.; MARTINEZ, R.; PINZDN, M. H.; RAMFREZ, J. Changes inchemical composition of catalyticallyhydrogenated orange oil (Citrussinensis). J. Chromat,v.752,p.217-222, 1996.

STUART, G. R.; LOPES, D.; OLIVEIRA, J. V. Deterpenation of brazilian orange peel oil by vacuum distillation. **JAOCS**, v.78,n.10, p.1041-1044, 2001.

SVOBODA, K. P.; GREENAWAY, R. I. Lemon scented plants. International Journal of Aromatherapy, v.13, n.1, p.23-32, 2003.

TEMELLI,F.; O'CONNELL, J.P.; CHEN,C. S.; BRADDOCK, R. J. Thermodynamicanalysis of supercritical carbon dioxide extraction of terpenes from cold-pressed orange oil. **Ind. Eng. Chem. Res**.,v.29, p.618-624, 1990.

TIENNE L.; DESCHAMPS, M. C.; ANDRADE, A.M. Produção de carvão e subprodutos da pirólise da casca e do bagaço de laranja (*Citrus sinensis*). *Biomassa & Energia*, v.1 (2), p.191-7, 2004.

TRUDGILL, P. W. – Terpenoid Metabolism by *Pseudomonas*. In: The Bacteria. ATreatise on Structure and Function. Vol. X. San Diego: Academic Press, Inc. GUNSALUS, I. C. (Cons. Ed.); SOKATCH, J. R.; ORNSTON, L. N. (Ed.-in-Chief). p. 483-525, 1986.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M.; GORDON, M. H.; RANEVA, V. G. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in twolipid systems. **Food Chemistry**, v.64, p.59-66, 1999.

YOUNG, R. H. Fresh Fruit Cultivars. In *Fresh Citrus Fruits*; Wardowski, W. F., Nagy, S., Grierson, W., Eds.; The AVI Publishing Company Inc.: Westport, CT, 1986; pp 102-126.

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extractsfrom myrtle(Myrtus communis var. italica L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.5, p.1362-1370, 2010.

WIDMER, W.; ZHOU, W.; GROHMANN. K. Pretreatment effects on orange processing waste for making ethanol by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresource Technology*, v. 101, p.5242-49, 2010.

WIJESINGHE, W.A.J. P.; WOO, L. W.; MOG, K. Y.; TAE, K. Y.; KWON, K. S.; TAE, J. B.; SOO, K. J.; SOO, H. M.; KYO, J. W.; AHN, G.; LEE, K. W.; JEON, Y. J. Value-added fermentation of *Ecklonia cava* processing by-product and its antioxidant effect. **Journal of Applied Phycology**, v.24, n.2, p.201-209, 2012.

WITZTUM, J. L.; STEINBERG, D. Role of oxidized low density lipoprotein inatherogenesis. **Journal of Clinical Investigation**, v.88, n.6, p.1785-1792, 1991.

VEKIARI, S. A.; PROTOPAPADAKIS, E. E.; PAPADOPOULOU, P.; PAPANICOLAOU, D.; PANOU, C.; VAMVAKIAS, M. Composition and seasonalvariation of the essential oil from leaves and peel of a Cretan lemonvariety. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.147-153, 2002.

VERZERA, A.; TROZZI, A; DUGO, G.; DI BELLA, G.; COTRONEO, A. Biological lemom and sweet orange essential oil composition. **Flavour Frag. Journal**, v.19, p.544-548, 2004.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **UltrasonicsSonochemistry**, v.8, p.303-313, 2001.

VIROT, V.; TOMAO, V.; GINIES, C.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. Green procedure with agreen solvent for fats and oils determination. Microwave integrated soxhlet usinglimonene followed by microwave Clevenger distillation. **Journal of Chromatography A**, v.1196, p.147-152, 2008.

VORA, J. D.; MATTHEWS, R. F.; CRANDALL, P. G.; COOK, R. Preparation and chemical composition of orange oils concentrates. **Journal of Food Science**, v.48, n.4, p.1197-1199, 1983.

ZAMPIERI, L. A. Bioxidação fúngica de valenceno a nootkatona, bioflavorizante de *grapefruit*. Dissertação de mestrado – Unicamp – Campinas, SP, 2006.