UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PERFIL VOLÁTIL DO ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE FRUTOS DE *SPONDIAS* E MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

Maria Terezinha Santos Leite Neta

ARACAJU-SE
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PERFIL VOLÁTIL DO ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE FRUTOS DE *SPONDIAS* E MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

Maria Terezinha Santos Leite Neta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Profº Dr. Narendra Narain
Co-orientador: Profª Drª Jane de Jesus da Silveira Moreira
Agência Financiadora: FAPITEC/CAPES

ARACAJU-SE
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PERFIL VOLÁTIL DO ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE FRUTOS DE *SPONDIAS* E MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

Autor: Maria Terezinha Santos Leite Neta
Orientador: Profº Dr. Narendra Narain
Co-orientador: Profª Drª Jane de Jesus da Silveira Moreira

Dissertação aprovada em ___ de Fevereiro de 2013 pela banca examinadora constituída por:

Banca Examinadora:

_____

Profª Drª. Alessandra Almeida Castro Pagani
Examinador Interno/PROCTA – UFS

_____

Prof. Dr. João Antonio Belmino dos Santos
Examinador Externo/DTA – UFS

_____

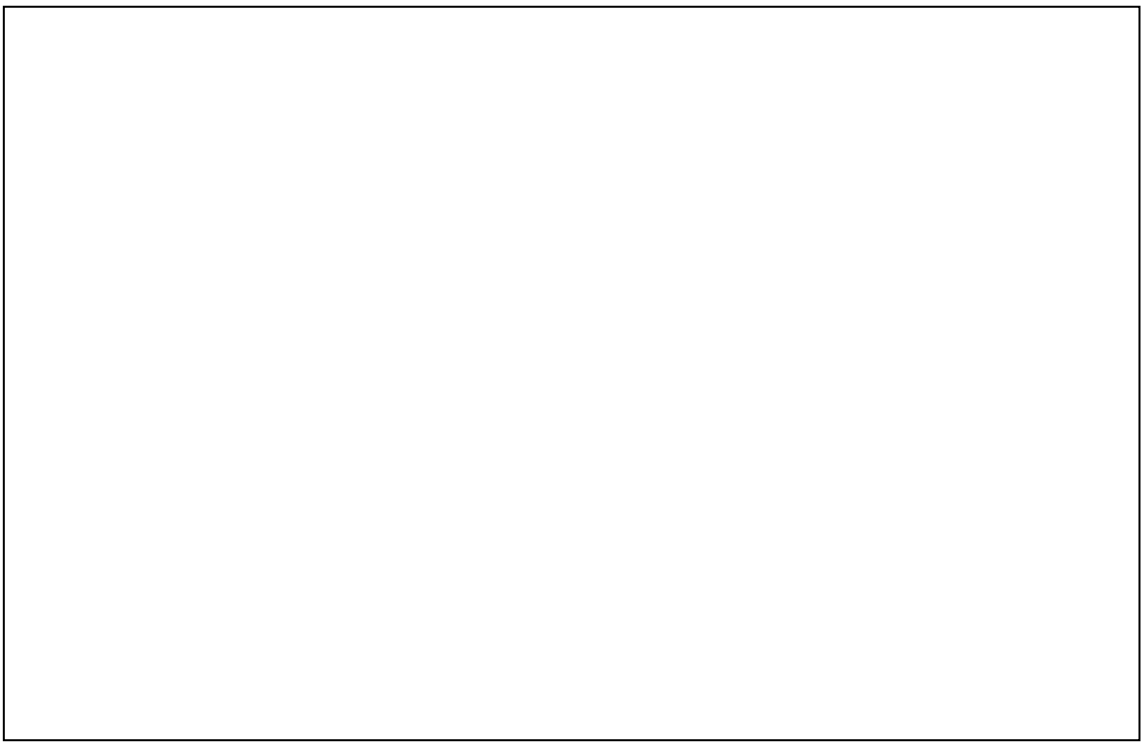
Prof. Dr. Narendra Narain
Orientador/PROCTA – UFS

ARACAJU-SE

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE



“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus não sou o que era antes.”

Marthin Luther King

VITAE DO CANDIDATO

Maria Terezinha Santos Leite Neta, filha de Givonilson Santos Leite e Anailde Barreto Santos Leite, nasceu no dia 21 de dezembro de 1983, em Aracaju-Sergipe.

Formação acadêmica/Titulação: Em 2002 iniciou o curso de Engenharia de Química na Universidade Federal de Sergipe (UFS), em 2006 tranferiu-se para o curso de Engenharia de Alimentos na mesma instituição de ensino, concluindo-o em 2010. Foi bolsista de Iniciação à Extensão e Iniciação Científica, no período de 2007 a 2008, 2008 a 2009 e 2009 a 2010, respectivamente. Em março de 2011, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão/SE.

Nome em citações bibliográficas: LEITE NETA, M.T.S

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por me permitir chegar até aqui depois de um 2012 tão confuso, carregando em seus braços na hora de meu sofrimento e por sempre estar ao meu lado me guiando, dando-me força, coragem e sabedoria.

A minha família pelos momentos de amor, carinho e diversão e apoio durante os momentos mais difíceis que passei.

Ao meu orientador Dr. Narendra Narain, por sua orientação e confiança depositadas em mim, como também pela solidariedade e compreensão quando mais precisei.

A minha co-orientadora Drª Jane de Jesus por tudo que me ensinou nesses dois anos não apenas na área acadêmica e também em minha vida pessoal. E não esquecendo claro pela incrível paciência que teve nesse período com o meu "jeito desorganizado". Eu vou melhorar mais professora!

A professora Maria Lúcia, por sempre, sempre mesmo de longe ser um exemplo e continuar me dando a felicidade de ter sua amizade.

Aos professores Alessandra, Luciana e Marcelo pelos ensinamentos na graduação que continuam até hoje, sempre vivos na memória.

Aos membros da banca examinadora pelo aceite e contribuições a este trabalho.

Aos companheiros de jornada Raquel, Anderson, Verinha e Mércia pelos momentos de trabalho, carinho e descontração.

Aos meus amigos Saulo e Marcelo pelos preciosos momentos de apoio e carinho durante esta jornada.

As minhas amigas Mariana e Lia que mesmo de longe continuam a torcer por mim.

A toda equipe do Laboratório de Análise de Flavor e do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela contribuição direta ou indireta em meu trabalho.

A CAPES, pelo apoio financeiro durante a vigência do curso;

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo obter e caracterizar o óleo essencial do pó de cascas de cajá-umbu (*Spondias* spp) e umbu (*Spondias tuberosa* L.) para fins de microencapsulamento, através de diferentes técnicas de extração. Os pós foram obtidos após secagem das cascas em estufa com circulação de ar a uma temperatura constante de 30°C para se evitar a degradação dos terpenos e facilitar a moagem . Foram ao todo testados três tipos diferentes de extrações sendo a primeira a hidrodestilação, seguida da técnica de extração por solventes (aquoso e orgânicos) e por último a técnica de extração enzimática. Durante o processo de obtenção dos extratos foi também otimizado o método de análise cromatográfico. Os cromatogramas obtidos mostraram que apenas a extração com o solvente orgânico 1,4-dioxano analisados em CG-EM apresetaram resultados expressivos com relação a extração de compostos voláteis. Os compostos encontrados em maior quantidade foram os da classe terpenica, sendo que para o pó de cajá-umbu os terpenos majoritários foram o cariofileno (6,173%), nootkatene (5,081%) e δ-cadineno (4,703%) e para o pó de umbu houve a predominância do monoterpeno limoneno com (98,853%). Para a extração enzimática não foi possível a obtenção dos resultados por motivos técnicos, entretanto os mesmos serão analisado futuramente. Entretanto a forma como esses compostos foram extraídos impossibilitam seu uso para microencapsulamento.

Palavras-chave: terpenos, extração, otimização.

ABSTRACT

This study has as its objective to obtain and characterize essential oil from powdered cajá-umbu peel (Spondias spp) and umbu (Spondias tuberose L.) for micro-encapsulation purposes, through several extraction techniques. The powder was acquired after drying of peels on kiln method under air circulation at a constant temperature of 30ºC in order to avoid degradation of terpenes and ease grinding. Three different types were under extraction test, being the first one to steam distillation, followed by extraction technique using solvents (aqueous and organic) and the last, but not the least the enzyme extraction technique. During the process of obtaining the extracts was also optimized chromatographic analysis method. The chromatograms showed that only the extraction with the organic solve 1,4 dioxane analyzed by GC-MS had submitted significant results due to extraction of volalite compounds. Compounds were fund in the largest amount of terpenic class, which cajá-umbu powder the majority terpenes were caryophylenne (6.173%), nootkatene (5.081%) and δ-cadinene (4.703%) and umbu powder predominated with the monoterpene limonene (98.853%). For enzymatic extraction was not possible to obtain the results for technical reasons, however they will be examined in future. However, the way these compounds were ectracted preclude its use for micro-encapsulation.

keywords: terpenes; extraction; optimization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 15
2. OBJETIVOS..... 16
2.1 Geral..... 16
2.2 Específicos..... 16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17
3.1 Compostos Aromáticos..... 17
3.2 Óleos Essenciais..... 19
3.2.1 Terpenos..... 23
3.3 Métodos de Extração de Óleos Essenciais 24
3.3.1 Enfleurage..... 24
3.3.2 Hidrodestilação..... 25
3.3.3 Extração com solventes orgâncos..... 25
3.3.4 Prensagem..... 26
3.3.5 Extração por CO_2 Super Crítico..... 27
3.3.6 Extração enzimática..... 28
3.4 Frutos do Gênero *Spondias*..... 28
3.4.1 Umbu..... 28
3.4.2 Cajá-umbu..... 29
3.5 Resíduos de frutas..... 31
4. MATERIAIS E MÉTODOS 33
4.1 Local da pesquisa..... 33
4.2 Material..... 33
4.3 Preparo das amostras..... 34
4.4 Metodologias de extração de óleos essenciais..... 34
4.4.1 Extração por Hidrodestilação..... 34
4.4.2 Extração com Solvente..... 35
4.4.2.1. Extração com solvente aquoso..... 35
4.4.2.2. Extração por Enfleurage..... 36
4.4.2.3 Extração com Acetato de Etila..... 37
4.4.2.4 Extração por Solvente com Hexano..... 38
4.4.2.5 Extração com 1,4 – Dioxano com SPE..... 38
4.4.2.6 Extração com 1,4 – Dioxano sem utilizar SPE..... 39
4.4.3 Extração Enzimática..... 39
4.4.4 Identificação da composição química volátil de cascas de *Spondias*.... 40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 41
5.1. Secagem das casca..... 41
5.2 Otimização do método cromatográfico..... 43
5.3 Obtenção dos óleos essenciais..... 44
5.3.1 Hidrodestilação..... 44
5.3.2 Extração por solvente aquoso..... 45
5.3.3. Extração com Solventes Orgânicos..... 48
5.3.3.1 Extração por *Enfleurage*..... 48
5.3.3.2 Extração com Hexano..... 49
5.3.3.3 Extração com Acetato de Etila..... 50
5.3.3.4 Extração com 1,4 dioxano com SPE..... 52
5.3.3.5 Extração com 1,4 – dioxano..... 53

5.3.4 Extração por via enzimática.....61
6. CONCLUSÃO..... 63
CAPÍTULO II.....65
1. INTRODUÇÃO..... 69
2. OBJETIVOS..... 69
2.1 Geral..... 69
2.2 Específicos..... 69
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 69
3.1 Encapsulamento 69
3.1.1. Métodos Físicos de Encapsulamento.....72
3.1.1.1. Spray-Drying.....72
3.1.1.2. Liofilização.....73
3.1.1.3. Leite Fluidizado.....73
3.1.1.4. Extrusão.....74
3.1.1.5. Co-cristalização.....74
3.1.2. Métodos Fisíco-Químicos.....78
3.1.2.1. Coacervação.....78
3.1.2.2. Lipossomas.....79
3.1.3. Métodos Químicos.....79
3.1.3.1. Complexação por Inclusão.....79
4. MATERIAIS E METODOS.....79
4.1. Matéria-prima.....79
4.1.1 Matrizes encapsulantes.....80
4.1.2. Obtenção do OE.....80
4.2. Microencapsulamento.....80
4.2.1 Cocristalização.....80
4.2.2 Liofilização.....80
4.3 Análises físicas e físico-químicas do OE e do encapsulado.....80
4.3.1 Densidade do óleo.....81
4.3.2 pH do óleo.....82
4.3.3 Densidade aparente do produto.....82
4.3.4 Solubilidade do produto.....82
4.3.5 pH do produto.....82
4.3.6 Sólidos solúveis do produto (°Brix).....82
4.3.7 Óleo de superfície do produto.....82
4.3.8 Atividade de água do produto (Aw).....83
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....83
5.1 Obtenção do OE de laranja.....83
5.2 Óleo essencial encapsulado.....83
5.2.1 OE de laranja co-cristalizado.....83
5.2.2 OE de laranja com matriz gelatina/ sacarose por liofilização.....85
5.2.3 Comparação entre os métodos.....87
6. CONCLUSÕES.....88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 89

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Classes de Compostos de Aromas e seus Limites de Percepção de Odor **18**

Tabela 2 – Os 18 principais OE no mercado mundia **22**

Tabela 3 – Solventes mais utilizados na extração supercrítica **27**

Tabela 4 – Compostos Voláteis **56**

Tabela 5 - Relações gelatina/sacarose no encapsulamento de OE de laranja por liofilização. **81**

Tabela 6 – Propriedades Físicas do OE encapsulado por co-cristalização **84**

Tabela 7 -Propriedades físicas do OE encapsulado por matriz de gelatina/sacarose e liofilizado, calculadas em triplicata para melhor significância. **86**

Tabela 8: Quadro comparativo entre o cocristalizado (1) e o encapsulado liofilizado (2) de melhor eficiência **87**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Monoterpenos **20**

Figura 2 – Sesquiterpenos **20**

Figura 3 – Fruto do umbu **29**

Figura 4 – Fruto do cajá-umbu **30**

Figura 5 – Extrator de Clevenger para OE **34**

Figura 6 – Fluxograma do tratamento as frutas "*in natura*" **35**

Figura 7 – Fluxograma da extração de OE por SPE por extração com solvente aquoso. **36**

Figura 8 – Fluxograma de extração de voláteis por Acetato de Etila **37**

Figura 9 – Fluxograma condicionamento SPE para extração com 1,4-Dioxano **38**

Figura 10 – Fluxograma da extração enzimática **39-40**

Figura 11 – Perda de Massa de casca de cajá-umbu e umbu durante a secagem **41**

Figura 12 – Cascas secas e trituradas: a) Cajá-Umbu e b) Umbu **42**

Figura 13 – CIT de umbu. a) Em hexano e b) Em etanol **46**

Figura 14 – CIT de cajá- umbu. a) Em hexano e b) Em etanol **47**

Figura 15 – Espectro do composto 2-hexil-2-octanol observado nos tempos de retenção (a) 31,025 min e (b) 38,250 min **48**

Figura 16 – CIT da extração com Hexano para Cajá-Umbu e umbu **50**

Figura 17 – CIT da extração com Acetato de Etila para Cajá-Umbu **51**

Figura 18 – CIT do extrato obtido por 1,4 – dioxano seguido de SPE em cartucho C18 **52**

Figura 19 – CIT do extrato da extração por 1,4 - Dioxano do cajá-umbu **53**

Figura 20 – CIT do extrato da extração por 1,4-dioxano do umbu **54**

Figura 21 – Fração lipídica obtida ao fim da extração enzimática **61**

Figura 22 – Métodos de microencapsulação **70**

SÍMBOLOS E ABREVIAÇÕES

OE	óleo essencial
OEs	óleos essenciais
%	percentual
°C	graus Celsius
FAO	Food and Agriculture Organization
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
UFS	Universidade Federal de Sergipe
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos
LAF	Laboratório de Análise de Flavor e Cromatográficas
CEASA	Central de Abastecimento do Estado de Sergipe
CG/EM	Cromatográfo a gás – Espectro de Massas
GC/MS	Gas Chromatography–Mass Spectrometry
IRL	Índice de retenção linear
SPE	*Solid Phase Extraction*
NIST	*National Institute of Standarts and Technology*
g	Grama
mg	Miligrama
mL	Mililitro
CIT	Cromatograma de íons totais

1. INTRODUÇÃO

O óleo essencial (OE) é uma mistura de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas (SIMÕES, 2003). Quimicamente são compostos de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpenos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e compostos contendo enxofre, apresentando diferentes concentrações. Dentre estes, o grupo mais representativo são os terpenóides, os quais são formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos; quando submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isoprenos, podendo referir-se, ocasionalmente, a todos os terpernos como isoprenóides (TAIZ e ZEIGER, 2004). É considerado um grupo homogêneo devido às unidades de isopreno (C_5H_8), os quais formam hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos (CASTRO *et al*., 2004; SIMÕES, 2004; BRIELMANN *et al*.2006). Os monoterpenos são substâncias voláteis pela sua baixa massa molecular, sendo que podem ocorrer nas células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos, pêlos glandulares e bolsas lisígenas (PERES, 2004).

Constituem um dos mais importantes grupos de matérias-primas para várias indústrias, principalmente as de perfumaria, alimentos e farmacêutica. Estes óleos são usualmente usados *in natura*, isto é, como misturas, pois as propriedades organolépticas estão associadas a vários componentes, que formam o *"bouquet"* de cada óleo em particular (CRAVEIRO *et al*, 1992).

Há inúmeros conglomerados internacionais que negociam óleos essenciais (OEs), os mais importantes empregando-os como matéria-prima para a produção de aromas e fragrâncias (BIZZO *et al*, 2009).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de OE, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os 4 grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos OE de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de OE de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de ser importador (BIZZO *et al*, 2009).

As *Spondias*, frutas exóticas típicas do nordeste, possuem sabor e aroma agradáveis, porém sua utilização limita-se apenas ao uso de sua polpa, levando a

geração de grande quantidade de resíduo industrial. Portanto, não existindo assim na literatura relatos sobre os OEs, tanto da polpa quanto do resíduo.

O emprego dos OE como essências de aroma é bastante comum na indústria de alimentos. Tendo em vista que não existe no mercado OE de frutas exóticas como as de *Spondias* citadas anteriormente e tampouco estudos sobre sua caracterização como também da sua utilização este trabalho teve como objetivo obter e carcterizar o OE dos resíduos de espécies de *Spondias*.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Obter e caracterizar OE dos resíduos gerados no processamento de polpa das frutas de duas diferentes espécies de *Spondia*s: Cajá-umbu (*Spondias tuberosa*) e Umbu *(Spondias* spp,).

2.2 Específicos

- Obter OEs pela técnica da hidrodestilação, usando o extrator de Clevenger;
- Testar outras técnicas de extração, tais como extração por solvente (aquoso e orgânico) e por via enzimática de OEs de *Spondias*;
- Identificar o melhor método de extração de OEs dos resíduos de frutas de *Spondias*;
- Identificar e quantificar compostos orgânicos voláteis presentes nos OE dos resíduos de frutas por meio da técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Compostos Aromáticos

O aroma é uma das características mais apreciadas em frutos e as substâncias voláteis são os principais componentes do aroma que atingem os receptores olfativos por meio do trato respiratório, compondo juntamente com o gosto, o sabor característico do alimento (RIZZOLO *et al*., 1992). Estas substâncias são produzidas por processos metabólicos durante o amadurecimento no campo, na pós-colheita do fruto e até mesmo no seu armazenamento (RIZZOLO *et al*., 1992).

O conhecimento da química do aroma desenvolveu-se com a utilização da cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massa, pois proporcionam os meios para investigar de forma consistente o campo das substâncias aromáticas responsáveis pelo sabor característico dos alimentos (JANZANTTI, 2004).

O sabor é o resultado da interação entre a sensação do gosto e do aroma, sendo uma característica muito importante para a aceitação de um produto; e enquanto o gosto é atribuído aos compostos não voláteis nos alimentos, tais como açúcares, sais, limonina e ácidos, o aroma é bem mais complexo e é devido às substâncias voláteis, representantes de várias classes químicas, com diferentes propriedades físico-químicas, como por exemplo, alcóois, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas, pirazinas, terpenos, compostos sulfurados, pironas e furanos (THOMAZINI; FRANCO, 2000).

O padrão de mudanças nos componentes do aroma, tanto em quantidade como tipo, durante toda a vida útil do fruto, desde a formação, maturação até a senescência ainda é limitado, de modo que não se conhece completamente, como cada componente é formado e metabolizado. O amadurecimento dos frutos envolve uma série de complexas reações bioquímicas, tais como hidrólise de amido, transformações da clorofila, produção de carotenóides, antocianinas e compostos fenólicos e a formação das substâncias voláteis, sendo que todas essas reações são importantes para as características finais do fruto maduro e na formação do sabor e aroma específicos de cada fruto (SPEIRS; BRADY, 1991).

Na constituição do aroma existem compostos contribuintes e compostos de impacto que são os responsáveis pela maior porcentagem dos compostos aromáticos

característicos do alimento, conforme mostrado na Tabela 1. O aroma típico de frutas, geralmente é o resultado da combinação de um grande número de compostos voláteis, ocorrendo em concentrações abaixo de 30 ppm, ou mesmo devido à presença de alguns poucos compostos de impacto, uma vez que mesmo os compostos voláteis que apresentam concentrações em partes por bilhão são capazes de influenciar a característica completa do aroma (GARRUTI *et al.*, 2003).

Tabela 1. Classes de Compostos de Aromas e seus Limites de Percepção de Odor

Classe	**Composto**	**Aroma**	**Limiar de percepção (ppb)**
Álcoóis	(R) 2-metil-butanol	fermentado, gorduroso	ND
	(R) 2-metil-butanol	fresco, éter	ND
	Trans-2-hexeno-1-ol	fruta, mais doce que o *cis*	400
Aldeídos	Acetaldeído	pungente, nota de noz, alcoólico quando diluído	15-120
	(S) 2-metil-butanal	pungente, fruta, fresco	ND
	Hexanal	fruta não amadurecida	4,5-5,0
	n-octanal	amargo, fruta cítrica	0,7
Ácidos	(S) ácido-2-metil- butanoico	fruta, doce	ND
carboxílicos	(R) ácido-2-metilbutanoico	queijo, adocicado	ND
Ésteres	Butanoato de etila	fruta remanescente de abacaxi	1
	Acetato de etila	éter, conhaque	5000
	Propionato de etila	fruta lembrando rum, doce	10
	Valerato de etila	forte, fruta, maçã	1,5-5,0
	Octanoato de etila	fruta, doce	15
	Dodecanoato de etila	gorduroso, oleoso, floral	2000

Fonte: Adaptado de PINHEIRO e PASTORE (2003); ND – Não Determinado

Os óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis extraídos de plantas aromáticas por processos de destilação, em sua maior parte formado por terpenos. São encontrados em pequenas bolsas (glândulas secretoras) existentes na superfície de folhas, flores ou no interior de talos, cascas e raízes (IOS, 1997).

3.2 Óleos Essenciais

Óleos essenciais (OEs) são extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação. São constituídos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO, 2009).

Os óleos voláteis podem estar presentes em diferentes partes das plantas, como por exemplo flores, folhas, cascas, tronco, galhos, raízes, rizomas, frutos ou sementes. Apesar de todos os órgãos de uma planta poderem acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização (SIMÕES *et al*., 2000).

Os terpenos são, de longe, o grupo mais importante de produtos naturais como OEs. Alguns autores, particularmente na literatura mais antiga, se referem a eles como terpenos, mas o termo é hoje restrito aos hidrocarbonetos monoterpenóides. São derivados do 2-metil-butadieno, mais conhecido como isopreno, uma molécula de 5 átomos de carbono. Possuem aroma agradável e encontram-se geralmente em folhas, flores, raízes, sementes e madeira de diversas plantas, podendo ser encontrados até mamíferos (SIMÕES *et al*, 2010).

A classificação dos terpenos se dá de acordo com as unidades de isopreno (C5) presentes na sua estrutura e são: Hemiterpenos (apenas 1 unidade isopreno), monoterpenos (formado por 2 unidades de isopreno), sesquiterpenos (formado por três unidades de isopreno), diterpenos (formado por 4 unidades de isopreno). Existem ainda os triterpenos (com mais de 30 carbonos na estrutura) e os tetraterpenos (com mais de 40 carbonos na estrutura). A seguir nas Figuras 1 e 2, respectivamente são mostrados algumas estruturas de mono e sesquiterpenos (HANDBOOK OF ESSENTIAL OILS, 2010).

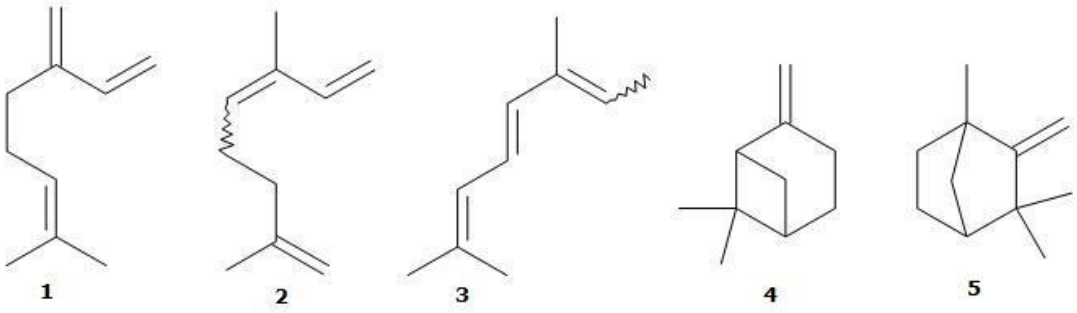


Figura 1 – Monoterpenos – (1) – Mirceno, (2) – α-ocimeno, (3) – allo-ocimeno, (4) - α-pineno e (5) – camfeno

Fonte: Handbook of Essential Oils, 2010

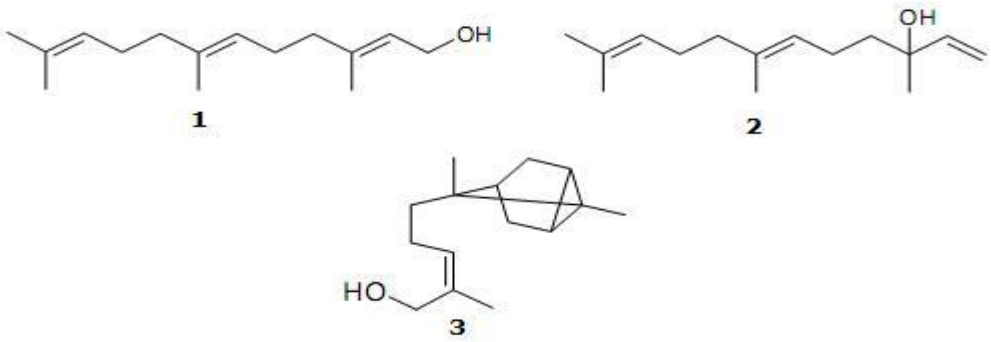


Figura 2 – Sesquiterpenos – (1) – Farnesol, (2) Nerolidol, (3) - α-Santalol

Fonte: Handbook of Essential Oils, 2010

Estima-se que o Brasil tem cerca de 50.000 espécies de plantas superiores, produtoras de madeiras, celulose, fibras, alimentos, óleos vegetais e OE entre outros produtos naturais. A floresta Amazônica com 4 milhões km^2 teria 30.000 espécies de plantas, cerca de um terço medicinais e/ou aromáticas e talvez 70 % destas usadas como medicamentos pela população local, além de outros usos. Porém, acredita-se que apenas 8 % das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e apenas 1.100 espécies vegetais da flora brasileira foram avaliadas em suas propriedades medicinais (LUPE, 2007).

As plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os continentes no controle de diversas doenças e pragas, além de representar uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem

modelos para síntese de um grande número de fármacos. O fato que gera interesse nos produtos encontrados na natureza é que esses apresentam enorme diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas. A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que, apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada. Além disso, como produtos de organismos que possuem muitas similaridades com o metabolismo dos mamíferos, os produtos naturais muitas vezes exibem propriedades adicionais as antimicrobianas a eles associados (LUPE, 2007).

É interessante notar que os OEs diferem-se quimicamente dos óleos vegetais e dos minerais. Os primeiros são misturas de terpenos, compostos oxigenados e outros tipos de funções orgânicas. Já os óleos vegetais são ésteres da glicerina com ácidos graxos de longas cadeias, enquanto que os últimos óleos citados são parafinas líquidas misturados a outros hidrocarbonetos de peso molecular elevado (LUPE, 2007).

A constituição química dos OE é muito complexa, chegando alguns a dezenas de compostos com funções orgânicas diferentes: hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, éteres e fenóis. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (CARVALHO, 2009).

Há inúmeros conglomerados internacionais que negociam OE, os mais importantes empregando-os como matéria-prima para a produção de aromas e fragrâncias. Há 300 OEs de importância comercial no mundo, os 18 principais podem ser vistos na Tabela 2. O Brasil tem lugar de destaque na produção de OE, juntamente com a Índia, China e Indonésia, que são considerados os 4 grandes produtores mundiais.

A posição do Brasil deve-se aos OE de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de OE de pau-rosa, sassafrás e menta.

Os OEs apresentam as mais diversas ações farmacológicas, tais como:

- Ação eupépticas (digestiva): condimentos como orégano, manjericão, sálvia, tomilho etc.

- Hiperemizante local: óleo de menta, que é rico em mentol; a cânfora como princípio ativo isolado.
- Antisséptica: OE de cravo, devido a presença do eugenol; OE de eucalipto, devido à grande quantidade de eucaliptol (cineol).

Os OEs são largamente usados em muitas indústrias para conferir aromas especiais em inúmeros produtos, tais como perfumes, cosméticos, sabonetes, condimentos etc. Uma das grandes dificuldades tecnológicas em relação aos OE é a sua preservação durante a extração e a estocagem, pois grande parte dos componentes é sensível ao calor e à oxidação sendo ainda altamente volátil. O óleo pode apresentar uso limitado para algumas aplicações pelas condições encontradas no meio. Estes óleos podem reagir com outros componentes da formulação alterando suas propriedades (GARGANO, 2007).

Tabela 2 – Os 18 principais OE comercializados no mercado mundial

OE	**Espécie**
Laranja[1]	*Citrus sinensis* (L.) *Osbeck*
Menta japonesa[2]	*Mentha arvensis* L. *f. piperascens Malinv. ex Holmes*
Eucalipto (tipo cineol)	*Eucalyptus globulus Labill., E. polybractea R.T. Baker e Eucalyptus spp.*
Citronela	*Cymbopogon winterianus Jowitt e C. nardus* (L.) *Rendle*
Hortelã-pimenta	*Mentha x piperita* L.
Limão	*Citrus limon* (L.) *N.*L. *Burm.*
Eucalipto (tipo citronela)	*Eucalyptus citriodora Hook.*
Cravo-da-índia	*Syzygium aromaticum* (L.) *Merr. e* L. *M. Perry*
Cedro[2]	*Juniperus virginiana* L. *e J. ashei Buchholz*
Lima destilada[1]	*Citrus aurantifolia (Christm. & Panz.) Swingle*
Spearmint (nativa)	*Mentha spicata* L.
Cedro[2]	*Chamaecyparis funebris (Endl.) Franco*
Lavandim	*Lavandula intermedia Emeric ex Loisel*
Sassafrás[2]	*Cinnamomum micranthum (Hayata) Hayata*
Cânfora	*Cinnamomum camphora* (L.) *J. Presl.*
Coentro	*Coriandrum sativum* L.
Grapefruit	*Citrus paradisi Macfady*
Patchouli	*Pogostemon cablin (Blanco) Benth.*

Fonte: Bizzo, 2009., *1-Brasil, 2- Índia, 3-China, 4- EUA

O aroma agradável e intenso presente na maioria dos óleos voláteis fazem com que estes sejam chamados de essências. Eles também são solúveis em solventes orgânicos pouco polares, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos ou, em latim, *aetheroleum* (RADÜNZ, 2004).

3.2.1 Terpenos

Os terpenos são compostos que ocorrem em todas as plantas e compreendem uma classe de metabólitos secundários com uma grande variedade estrutural (RAVEN *et al.*, 2001). Até o presente momento, já foram catalogados aproximadamente 25.000 diferentes compostos terpênicos. Os terpenos são formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos; quando submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isoprenos, podendo referir-se, ocasionalmente, a todos os terpernos como isoprenóides (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Como dito anteriormente os terpenos ou terpenóides podem ser classificados de acordo com o número de isoprenos que os constituem: hemiterpenóides, monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, tetraterpenóides e politerpenóides (OLIVEIRA *et al*., 2003). Os terpenos ou terpenoides apresentam funções variadas nos vegetais. Os monoterpenos podem atuar na atração de polinizadores. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto que muitos diterpenos dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenoides e seus derivados, os esteroides, apresentam uma gama de funções. Muitos têm funções de proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos e outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (HOLETZ et al. 2002; MORITA et al. 2000; EL-SAKHAWY *et al*. 1998).

Os monoterpenos constituem 90% dos óleos essenciais. São altamente hidrofóbicos e seus efeitos biológicos estão relacionados com interações com a membrana dos microrganismos (TURINA *et al*. 2006). Estão relacionados com uma série de funções químicas, tais como álcoois, aldeídos, éteres, entre outras. Da mesma forma que os monoterpenos, os sesquiterpenos também podem estar associados a funções químicas como carbonetos, álcoois, entre outras (BAKKALI et al. 2008). Eles são comumente utilizados como componentes de fragrâncias, cosméticos, produtos

de limpeza, desinfetantes, aditivos de alimentos e remédios devido aos aromas e propriedades antimicrobianas que possuem (SEO *et al*. 2008; AMARAL *et al*. 1998). Por estes motivos, ou seja, devido à sua gama de aplicações biotecnológicas, que os terpenóides vêm chamando a atenção (ZWENGER & BASU, 2007).

3.3 Métodos de Extração de Óleos Essenciais

3.3.1 Enfleurage

É empregado para extrair óleo essencial de pétalas de flores. As pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante certo período de tempo. Em seguida, essas pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o óleo essencial, o álcool é destilado a baixa temperatura, o produto assim possui alto valor comercial. (LUPE, 2007).

Esta técnica não vinha sendo mais utilizada no mundo desde 2002 por ser cara, rara e trabalhosa resultando assim em um OE de alto valor. No entanto, o programa Terra Viva trouxe seu *know how* na produção, seleção e transporte de flores o mundo da perfumaria e em conjunto com o Grupo O Boticário e o apoio de pesquisadores da Universidade de Campinas – Unicamp, que desenvolveram uma versão moderna da técnica, que não usa gordura animal – uma das premissas de atuação da empresa. Na *enfleurage* , flores são colocadas em caixas, tampadas com placas cobertas de gordura, que não toca as pétalas, mas retém todo o seu perfume. Após algum tempo, a gordura é lavada em álcool e, em seguida, faz-se a purificação do óleo essencial.

Dentro de sua fábrica de Curitiba (PR), o Grupo Boticário construiu um espaço exclusivo para o desenvolvimento da técnica da *enfleurage.* Onde as flores chegam à empresa ainda em botão e desabrocham para que seu perfume seja "capturado". Nesta área, a exemplo do que faziam os antigos alquimistas, profissionais treinados criam, de forma artesanal e única, a fragrância mais sofisticada do Boticário. Como resultado a marca trouxe ao mercado brasileiro **Lily Essence** – a primeira *eau de parfum* da empresa (PORTAL NEGÓCIOS COM FLORES, 2013).

3.3.2. Hidrodestilação ou Arraste por Vapor d'água

Os constituintes do material vegetal possuem pressão de vapor mais elevada que a da água, sendo por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo essencial obtido, após separar-se da água, deve ser seco com Na_2SO_4 anidro. Esse procedimento, embora clássico, pode levar à formação de artefatos em função da alta temperatura empregada. Preferencialmente, esse método é utilizado para extrair óleos de plantas frescas. (LUPE, 2007).

Inúmeros trabalhos com esta técnica já foram realizados para os mais variados fins, como, por exemplo Santos *et al* (2007) que utilizando a extração por Clevenger determinaram o rendimento e a atividade antimicrobiana da *Cymbopogon citratus* em função da sazonalidade.

A extração de óleo essencial realizada através de arraste de vapor (Extrator de Clevenger), possui algumas desvantagens como o aquecimento que leva a perda de alguns compostos voláteis. Em virtude disso alguns estudos realizaram uma comparação da fração dos terpenóides presentes no óleo essencial extraídos pelo Clevenger modificado e alguns métodos de extração (Ultrassom - US, Soxhlet, Maceração e Extração Acelerada com Solventes - ASE) utilizando éter de petróleo como solvente, mostrando que as frações obtidas apresentaram-se bastante similares qualitativamente, salvo quanto a ausência de diterpenos no óleo essencial extraído por Clevenger e de monoterpenos no óleo extraído com solvente (SILVA, (2009)).

3.3.3. Extração com solventes orgânicos

Os óleos essenciais são extraídos, preferencialmente, com solventes apolares que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos, além dos óleos essenciais. Por isso, os produtos assim obtidos raramente possuem valor comercial.

A técnica de extração de óleos essenciais por solvente utiliza um ou vários solventes, conforme o tipo de material que se deseja trabalhar. Os solventes mais utilizados são o éter de petróleo, acetato de etila, diclorometano, acetona, etanol e hexano e suas várias combinações. Alguns solventes por serem muito tóxicos não

podem ser aplicados na fabricação de aromas para aditivos alimentares. A maior parte dos solventes tem periculosidade no manuseio, sendo muito inflamáveis, além de tóxicos. O processo de extração deve retirar praticamente todo o resíduo do solvente do produto final, para que tenha condições de atender aos requisitos de produtos benéficos para a saúde, sejam cosméticos, ou alimentos. As várias dificuldades operacionais, aliadas ao custo elevado dos solventes, fazem com que esse tipo de obtenção de essências fique direcionado apenas às plantas cujo rendimento de extração, por destilação, seja muito baixo, ou quando o componente desejado não seja arrastado pela técnica de destilação. De qualquer forma, os rendimentos com solvente são muito mais elevados, porém o arraste de componentes normalmente não é seletivo. Ele acaba trazendo, além do óleo essencial, os componentes responsáveis pela pungência, pigmentos e componentes indesejados, o que obriga um posterior processo de retificação do produto (GROSSMAN, 2005).

3.3.4. Prensagem

A extração por prensagem a frio é um método muito utilizado no Brasil pelas indústrias de suco de laranja, como uma forma de aproveitar as cascas das frutas. Ele consiste em espremer as frutas inteiras, em uma prensa hidráulica, à temperatura ambiente, e em seguida, por centrifugação, separar o óleo essencial do suco (WOLFFENBÜTTEL, 2010). Este método é muito utilizado na extração de óleos cítricos, laranja, limão e bergamota, mas pode ser usado também para extrair óleo de amêndoas, castanha e gérmen de trigo (OLEOSESSENCIAIS, 2011).

A prensagem apresenta algumas desvantagens como a impossibilidade de ser utilizada em outras frutas que não possuam uma quantidade de óleo relativamente abundante ou ainda como relatada por Wolffenbüttel (2010) onde a substância bergapteno (5-metoxipsoraleno) é extraída de frutas cítricas junto com o óleo essencial na prensagem a frio, vindo a causar invariavelmente manchas na pele. Isso, já ocorre naturalmente quando manipulamos frutas cítricas sob exposição solar. A bergapteno também está presente na composição do óleo extraído por arraste a vapor, porém devido ao aumento da temperatura, esta substância degrada, não provocando manchas quando a pele expõe-se ao sol.

3.3.5. Extração por CO_2 Super Crítico

Quando uma substância está sujeita a temperaturas e pressões acima do seu ponto crítico, um gás altamente comprimido, conhecido como fluido supercrítico, se forma. As extrações com fluidos supercríticos são muito rápidas, pois apresentam boa transferência de massa em função da baixa viscosidade e alta difusibilidade do fluido supercrítico (FREITAS, 2007).

Esse método permite recuperar os aromas naturais de vários tipos e não somente óleo essencial, de um modo bastante eficiente. É o método ideal para extração industrial de óleos essenciais. Nenhum traço de solvente permanece no produto obtido, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos.

Vários solventes podem ser utilizados como fluidos supercríticos como mostrado na Tabela 3 sendo o CO_2, o mais utilizado por apresentar pressão crítica moderada e baixa temperatura crítica, ideal para muitos compostos termolábeis. Além disso, é facilmente separado do soluto, não é tóxico, não causa problemas ambientais, não é inflamável e é barato (FREITAS, 2007).

Tabela 3 – Solventes mais utilizados na extração supercrítica

Fluidos	**T_C(°C)**	**P_C(atm)**	**ρ_C(g/cm^3)**
CO_2	31	72,85	0,469
NH_3	133	111,54	0,236
Água	374	217,17	0,323
N_2O	36	71,50	0,452
Metano	-82	45,41	0,169
Etano	32	48,17	0,203
Propano	97	41,85	0,217
Pentano	197	33,26	0,237
Etileno	197	49,65	0,218
Tolueno	9	40,57	0,292
Metanol	319	79,86	0,272
Etanol	240	60,61	0,276
Acetona	235	46,39	0,279
Éter etílico	194	35,93	0,265

T_C= temperatura crítica; P_C= pressão crítica; ρ_C=densidade crítica

Fonte: Freitas, 2007

Para tal extração, o CO_2 é primeiramente liquefeito através de compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a 31°C. Nessa temperatura, o CO_2 atinge um quarto estado, no qual sua viscosidade é análoga à de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, faz-se o CO_2 retornar ao estado gasoso, resultando na sua total eliminação (FREITAS, 2007).

3.3.6. Extração enzimática de óleos vegetais

O uso de enzimas na extração de óleos vegetais foi pesquisado intensamente na última década e foi aplicado para todas as oleaginosas de interesse comercial, como mostrado nos trabalhos de revisão publicados por Dominguez *et al*, (1994) e Freitas *et al*, (1996). A aplicação dessa tecnologia em escala comercial está restrita, no entanto, à obtenção de óleo de oliva. Este óleo tem longa tradição na alimentação humana e a aplicação de enzimas em escala industrial representou uma contribuição da tecnologia para aumentar a quantidade e estabilidade do óleo extra-virgem, obtido na primeira prensagem do fruto (CHRISTENSEN, 1991). Para se realizar a extração do óleo, que se encontra nos vacúolos intracelulares, há necessidade de se romper paredes e membranas celulares. Os tratamentos mecânico e térmico causam a ruptura das estruturas celulares, porém, não são suficientes, já que parte do óleo permanece na célula, sem ser extraído. Através da hidrólise, rompe-se a parede celular e há maior liberação de óleo, ocorrendo também o rompimento do complexo molecular lipoproteína e lipopolissacarídeo em moléculas simples, liberando óleo extra que por outro método não seria extraído (SHANKAR, 1997).

3.4 Frutos do Gênero *Spondias*

3.4.1. Umbu

De acordo com Gomes (1965), o umbuzeiro é uma planta frutífera, xerófita, perfeitamente, adaptada às zonas menos chuvosas do Nordeste do Brasil. A resistência do umbuzeiro à seca é assegurada pelos xilopódios (batatas), que tem uma função importante no armazenamento de água e substâncias nutritivas. As espécies que não possuem essas estruturas (xilopódios) são mais vulneráveis às secas, não se desenvolvem bem e às vezes nem se reproduzem na região semi-árida (MEDEIROS, 2004). A floração do umbu (Figura 3) se dá após as primeiras chuvas e a abertura das

flores, durante a madrugada, entre zero e quatro horas, independente do ambiente (QUEIROZ, 1994).

Figura 3 – Fruto do umbu

Apesar de fornecer um dos frutos mais importantes do Nordeste, o umbuzeiro, ainda é pouco explorado. Ainda assim, levantamentos sócio-econômicos indicam que é uma cultura de grande importância em áreas expressivas do semi-árido. Além da importância alimentar, o umbu se constitui, também, como fonte de renda para as famílias dos agricultores da região semi-árida do nordeste (IBGE, 2011; LIMA, 1992; SANTOS, 1998). No entanto é uma fruta de rápida sazonalidade e perecibilidade.

Existem poucos estudos de compostos voláteis sobre a casca de umbu. Para a polpa de umbu Galvão *et al* (2011) identificaram como principais compostos voláteis que podem ser responsáveis pelo aroma característico de polpa de umbu madura foram β-(*Z*)-ocimene, metil pirazina, 2-btil-tiofeno, octanoato de metila, 2-hexil-furan, 2-octanol, (*E*)-2-ciclohexen-1-ona, 3-bromo-ciclohexene, 1-heptanol, 2-nonanol e 1-octanol.

3.4.2. Cajá-umbu

O cajá-umbu (*Spondias* spp.), apresentado na Figura 4, pertence à família *Anacardiaceae* e ao gênero *Spondias*, o mesmo ao qual pertencem também outras importantes frutíferas como a cajaraneira (*S. cytherea*, Sonn.), a cirigueleira (*S. purpúrea*, L.) a cajazeira (*S. mombim*) e o umbuzeiro (*S. tuberosa*) (SANTOS *et al*., 2008). O cajá-umbu é considerado um híbrido natural entre o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e a cajazeira (*Spondias lutea*) e é uma fruta tropical nativa do Nordeste

Brasileiro, principalmente em ecossistemas de transição entre a Mata Atlântica e a Caatinga e de fácil propagação (GIACOMETTI, 1993).

Segundo Lima *et al.* (2002) os frutos possuem excelente sabor e aroma, boa aparência e qualidade nutritiva, sendo muito consumido na forma *in natura*, apresentando rendimento médio de 55 a 65% em polpa, com potencial para utilização na forma processada como polpa congelada, sucos, néctares, sorvetes e geléias (TORRES *et al*., 2003).

Figura 4 – Fruto de cajá-umbu

O aproveitamento socioeconômico e a demanda de pesquisas de espécies frutíferas nativas, como o cajá-umbu, têm sido inibidos tanto pela forte pressão do mercado consumidor de frutas tradicionais de clima tropical e subtropical, já adaptadas, como também pelo mercado de frutas de clima temperado, aclimatadas. Porém, a oferta de novas alternativas de frutas frescas para o consumo in natura e matéria-prima para agroindústrias constituem uma preciosa fonte de alimentos e riqueza para o país (SOUZA, 2001).

Com relação à composição volátil do cajá-umbu, Narain *et al* (2007) encontraram na polpa de cajá-umbu em dois diferentes estágios de maturação “de vez”e maduro, 64 e 70 compostos respectivamente, utilizando a técnica de purge and trap. Para a polpa de cajá-umbu “de vez” os compostos majoritários foram β-cariofileno (22,2%), 2-metil-butanal (19,3%), 2-hexanol (18,6%), butanoato de etila (7,6%) e α-cariofileno (3,9%), enquanto que, para a polpa madura os principais compostos encontrados foram o 2-metil-butanal (28,4%), β-cariofileno (14,1%), butanoato de etila (6,1%), α-cariofileno (2,4%).

De acordo com Bueno (2004) para o cajá-umbu os compostos majoritários encontrados foram os compostos terpênicos (87%), sendo seguido pelos ésteres (5%), pela técnica do headspace dinâmico. Para a casca de umbu-cajá apenas um trabalho (ALMEIDA, 2009) foi encontrado relatando compostos voláteis extraídos em água gelada a partir do fruto integral. Os compostos identificados por IRL (Índice de Retenção Linear) e CG/EM foram α-terpineol, 6,7-dihydro-7-hydroxylinalool, canfeno e β-linalool.

3.5 Resíduos de frutas

Um dos principais entraves ao desenvolvimento da indústria de processamento de frutas e hortaliças em diversas partes do mundo está associado à significativa quantidade de resíduos orgânicos que são gerados pela atividade. Em muitos casos, como no processamento mínimo de melões, o rendimento é da ordem de 38 a 42% em massa fresca dos frutos inteiros, isto é, de 58 a 62% da matéria-prima é descartada como resíduo (PINTO, 2002).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF), em 2011 o Brasil foi o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, atrás apenas da China e da Índia, com uma produção que superou os 43 milhões de toneladas. A região Nordeste foi responsável pela maior parte da produção de frutas tropicais, destacando-se o abacaxi, o abacate, a banana, o caju, o coco, o mamão, a manga, o maracujá, a uva, a acerola e a goiaba. Neste setor, além da demanda por frutas frescas e tecnologias que permitam manter a qualidade das frutas, aumentando a vida de prateleira e minimizando as perdas, é crescente o mercado de sucos e polpas, por preservarem as características químicas e sensoriais da fruta fresca e o consumidor poder encontrá-las durante o ano todo, sem ter que se preocupar com a época e o amadurecimento da fruta.

A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) estima que o Brasil joga no lixo, anualmente, 26,3 milhões de toneladas de comida, enquanto uma grande parcela de pessoas, composta de 15 milhões de brasileiros, não tem o que comer. O desperdício começa na hora do plantio, colheita e armazenamento dos alimentos e continua dentro de casa, quando se joga no lixo cerca de 60% do que é

comprado. Na área de frutas e legumes, estas perdas chegam a 25% da produção total (ESTECHE, 2008).

Além do desperdício e combate à desnutrição, há a crescente preocupação com o descarte destes resíduos, que podem levar a problemas ambientais pela presença de substâncias de alto valor orgânico, potenciais fontes de nutrientes para microrganismos, como também a perdas de biomassa e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição (ABUD e NARAIN, 2009).

Infelizmente, ainda existem poucas alternativas para a utilização da maior parte dos resíduos vegetais, sendo esses dispostos no ambiente, utilizados como fertilizantes orgânicos ou na alimentação animal, sem qualquer tratamento. Porém, a demanda desses resíduos pode variar e depender da produção agrícola, além do problema de descarte desses subprodutos, agravado por restrições legais (LAUFENBERG *et al* 2003; SCHIEBER *et al*, 2001).

Inúmeros estudos utilizando resíduos industriais do processamento de alimentos têm sido realizados visando à redução do impacto ambiental e o desenvolvimento de tecnologias que agreguem valor aos produtos obtidos (KOBORI e JORGE, 2005; LAUFENBERG *et al*., 2003; PELIZER *et al*., 2007).

Para os resíduos de *Spondias* são poucos os trabalhos demonstrando seu reaproveitamento. Abud e Narain (2009) reaproveitaram o resíduo de polpa de umbu para formulação de biscoitos em diferentes formulações, tendo este produto uma boa aceitação sensorial e um importante valor nutricional.

As cascas de frutas são subprodutos da indústria de processamento de sucos e são excelentes fontes de antioxiodantes. A utilização (reaproveitamento) dessas cascas na forma de extrato pode ser empregada na forma de aditivos alimentícios, como também antioxidantes naturais, apresentando efeito sinergista em formulações de diversos alimentos processados. De acordo com Guimarães *et al*, (2010), as cascas de vegetais são ricas em compostos bioativos já comprovado por estudos e, embora sejam consideradas subproduto, são fontes de diversos compostos químicos com atividades biológicas, como a antioxidante, por exemplo.

Barros, (2011) estudou a capacidade antioxidante das cascas de maçã, buriti,uva e romã, com a finalidade de usar o pó para enriquecimento de sucos prontos tendo a casca de romã a que apresentou maior atividade antioxidante, sendo utilizada para o enriquecimento do suco pronto comercial.

Entretanto estudos com a composição volátil de cascas de frutas, exceto as de frutas cítricas são escassos, sendo a grande parte relacionado a seus compostos bioativos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local da pesquisa

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Alimentos no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) e no Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas (LAF) do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PROCTA), da Universidade Federal de Sergipe, Campus de São Cristóvão.

4.2 Material

As frutas foram adquiridas no Centro de Abastecimento do município de Aracaju – SE e no Mercado Central de Aracaju-SE. A seleção dos frutos foi realizada visualmente através da integridade física, coloração, buscando uma maior homogeneidade no estádio de maturação maduro. Depois de selecionadas, foram transportadas para o laboratório onde uma parte foi reservada *in natura* para posterior extração e as restantes passaram pelo processo de despolpa a mão, para assim evitar maiores danos às cascas

4.3 Preparo das amostras

Depois de retiradas as cascas foram levadas para uma estufa de secagem por circulação de ar, marca MARCONI, e foram desidratadas durante 30 horas a uma temperatura de 30°C para evitar degradação por temperatura dos compostos voláteis.

Após a desidratação as cascas foram recolhidas e moídas em moinho IKA, resultando assim em pó, seguindo para o armazenamento em recipiente de vidro protegido por papel alumínio, para evitar degradação por incidência de luz, saturado com N_2 para minimizar processos de oxidação e aumentar seu tempo de armazenagem. O frasco foi mantido em freezer a temperatura de -18°C.

4.4. Metodologias de extração de óleos essenciais

4.4.1 Extração por Hidrodestilação

A extração do óleo essencial ocorreu de acordo com metodologia adaptada de Craveiro (1981) utilizando aparelho de Clevenger, onde 60g de pó de casca, juntamente com 450 mL de água destilada, foram colocados em um balão de 1L e aquecidos em manta de aquecimento, a uma temperatura de 100°C, contando-se 3 horas a partir do decaimento da primeira gota de óleo.

Figura 5 – Extrator de Clevenger para OE

4.4.2 Extração com Solvente

As extrações com solvente foram realizadas com dois tipos de solventes: aquosos (água) e orgânicos (hexano, acetato de etila, 1,4-Dioxano). Quando não usado o pó da casca na extração eram utilizadas frutas inteiras, que recebiam o tratamento descrito no fluxograma da Figura 6 previamente.

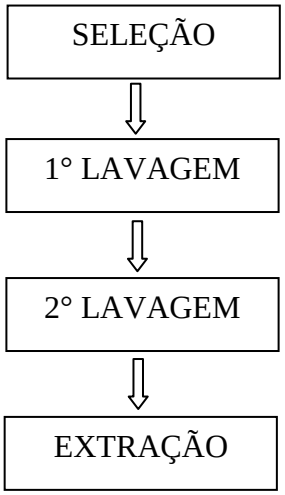


Figura 6 – Fluxograma do tratamento as frutas "*in natura*"

4.4.2.1. Extração com solvente aquoso

A extração por solvente aquoso ocorreu conforme metodologia adaptada de Almeida (2009), onde aproximadamente 20 frutas inteiras, após tratamento foram colocadas em erlenmeyers de 2L. Em seguida, foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para cobrir todas as frutas inteiras. Posteriormente, o erlenmeyer foi levado à refrigeração a uma temperatura em torno de 5°C durante 24horas.

Após esse período as frutas foram retiradas e com a solução aquosa obtida foi preparado um extrato por SPE (*Solid Phase Extraction*) utilizando um cartucho de C18 (Supelclan ENVI-18;SPE-57063) com capacidade de volume de 3mL e manifold Allcrom com capacidade para 24 cartuchos acoplado a um sistema de vácuo. Os cartuchos foram condicionados primeiramente passando 5mL de água destilada, em seguida foram condicionados também com 2 mL de álcool etílico. Após o condicionamento o extrato foi obtido seguindo o fluxograma da Figura 7.

Os extratos obtidos foram armazenados em tubos de vidro, com tampa rosqueável, saturado por um fluxo de N_2 para evitar degradação da amostra e em seguida levados ao freezer a -18°C.

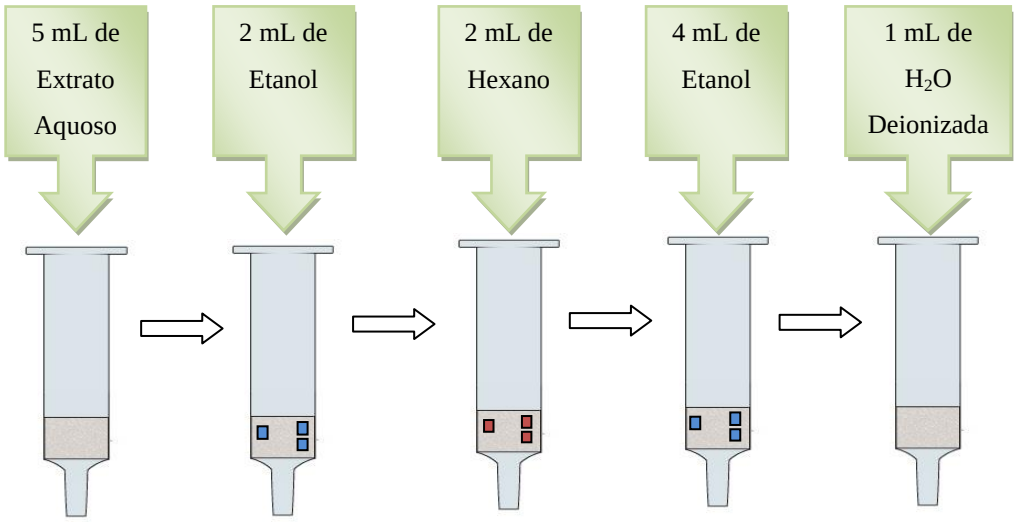


Figura 7 – Fluxograma da extração de OE por SPE por extração com solvente aquoso.

4.4.2.2. Extração por Enfleurage

Após a higienização das frutas conforme fluxograma da Figura 6 na página 35, as mesmas foram colocadas em um recipiente com capacidade de volume de 1L, estéril, contendo cerca de 750 gramas de banha animal comercial dentro, onde foram distribuídas em camadas alternadas até que 1/3 do recipiente fosse preenchido. O mesmo foi armazenado em temperatura ambiente, protegido da luz. As frutas foram trocadas a cada 48 horas sem reposição da banha para que houvesse acúmulo dos compostos voláteis as trocas acorreram pelo prazo de uma semana.

Ao final desse tempo a banha era separada das frutas e seguia para lavagem com 100 mL de Etanol P.A. (95% de pureza) onde permanecia em contato com o álcool durante 30 min, para que houvesse então a transferência dos compostos voláteis extraídos para o álcool. Com o fim do período de contato o álcool era retirado, armazenado em frasco âmbar e a -18°C. O processo era repetido até que não fosse mais notado aroma característico da fruta na banha animal. O extrato etanólico era então rotaevaporado até a secura a uma temperatura por volto de em um sistema a vácuo, a uma temperatura de 50°C o qual foi resuspendido em Hexano °HPLC (97,7% de pureza) e levado posteriormente para análise cromatográfica.

4.4.2.3 Extração com Acetato de Etila

A extração com acetato de etila foi realizada conforme fluxograma apresentado na Figura 8 em concordância com metodologia adaptada de Rodrigues (2002) que utilizou este solvente para extrair óleos essenciais de manjerona e orégano.

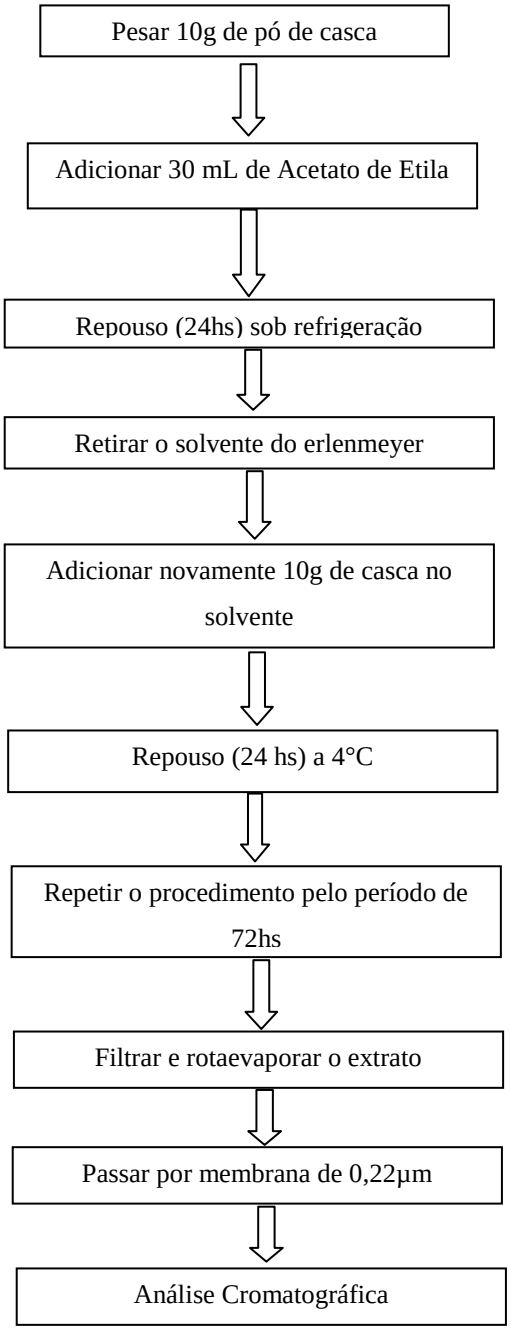


Figura 8 – Fluxograma de extração de voláteis por Acetato de Etila

4.4.2.4 Extração por Solvente com Hexano

Foram pesados 20g de pó de casca em erlenmeyer, onde em seguida foram adicionados 150 mL de Hexano grau °HPLC (Mallinckrodt). A mistura repousou durante 48hs ao abrigado da luz. Após o período de repouso a mistura foi filtrada e a fração líquida percolada em carvão ativo para diminuir a pigmentação da amostra. A fração orgânica foi evaporada a uma temperatura de 45-50°C e o resíduo resultante foi solubilizado em etanol na quantidade de 10 mL e levado à análise em CG/EM.

4.4.2.5 Extração com 1,4 – Dioxano com SPE

A extração utilizando 1,4 – dioxano foi realizada conforme metodologia descrita por Dawidowicz, *et al* (2010) para a extração de óleos essenciais em ervas, onde 0,75g de casca seca e triturada foram misturadas a 2mL de 1,4 - dioxano e colocado em repouso por 30 min sob refrigeração. No decorrer do tempo de repouso os cartuchos de SPE foram condicionados de duas formas, conforme o fluxograma abaixo:

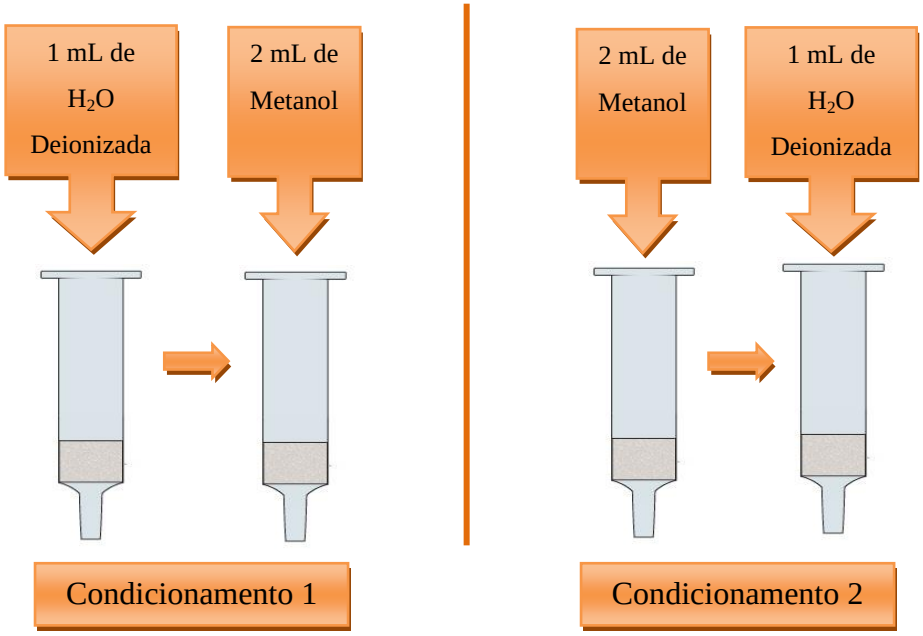


Figura 9 – Fluxograma condicionamento SPE para extração com 1,4-Dioxano

Após a etapa mostrada acima, ambos os cartuchos passaram por um recondicionamento com 5mL de uma solução de hexano:acetato de etila (9:1). Em seguida com o fim do tempo de repouso a solução 1,4-dioxano + casca seca foi filtrada e a solução resultante foi eluída nos cartuchos de SPE e as frações de interesse recuperadas, primeiramente em metanol e em seguida na solução de hexano:acetato de

etila. Os extratos foram saturados com N_2 e armazenados em freezer a -18°C para posterior análise cromatográfica.

4.4.2.6 Extração com 1,4 – Dioxano sem utilizar SPE

Com a finalidade de aumentar a concentração dos compostos de interesse no momento da análise cromatográfica a metodologia descrita por Dawidowicz, *et al* (2010) foi adaptada da seguinte forma: 1,5g de casca seca e triturada foi diluída em 20mL de 1,4 Dioxano seguidos por 30min de repouso sob refrigeração. Após esse tempo a fase líquida foi decantada e filtrada em membrana de 0,22µm, sendo levada para análise imediata em CG/EM.

4.4.3 Extração Enzimática

A extração por via enzimática foi realizada conforme fluxograma apresentado na Figura 10. A enzima utilizada foi Pectinase de *Aspergillus Niger*, do tipo hidrolase, classifcada como endo-poligalacturonase (endo-PG), em pó (EC:3.2.1.15 da marca Sigma-Aldrich) com CAS Number: 9032-75-1, conforme metodologia descrita por Villarubia (2011).

Preparação da Solução Enzima

(enzima - 0.5% em relação a amostra + 600mL, Solução tampão de Acetato de Sódio (0,2M) - pH 4.0)

↓

Adicionar cascas secas (0,25g)

↓

Adicionar solução enzimática

(na proporção de 1:6 amostra: tampão)

↓

Incubar por 12h em agitação constante

↓

Aquecer em banho-maria por 10min (75-85°C)

↓

Resfriar a temperatura ambiente

↓

Filtrar com gaze

↓

Extração líquido - líquido com Éter de Petróleo

↓

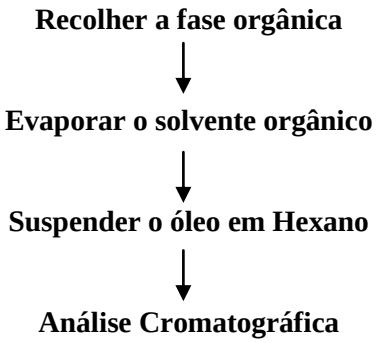


Figura 10 – Fluxograma da extração enzimática

4.4.4 Identificação da composição química volátil de cascas de *Spondias*.

As análises de identificação e quantificação dos compostos voláteis presentes nas frações de OEs foi realizada em um cromatógrafo a gás (Varian modelo 3900) equipado com coluna apolar (HP-5MS (30m x 25mm x 0,25µm) com programação de temperatura de forno de 60-250ºC (3ºC/min), segundo Adams (1995), injetor operando no modo Split (razão 1:10) a temperatura de 220 ºC. A detecção dos analitos foi realizada em um espectrômetro de massas (Varian *Ion Trap,* modelo 3900) com *transferline* na temperatura de 180°C, com fonte de ionização por impacto de elétrons de 70eV. A faixa de "*scanning*" de massa foi de 35 a 350 m/z. A demora no início de atuação do espectrômetro de massas (*delay*) foi de 4 minutos. A identificação dos compostos orgânicos voláteis dos OEs, em ambos os equipamentos, foi realizada usando o Índice de retenção linear (IRL) obtido a partir dos padrões de autênticos e auxilio da biblioteca de espectros de massas do NIST (National Institute os Standard and Technology, 2008), ADAMS (2007), literatura e data bases online como odour.org.uk e pherobase.com.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Secagem das cascas

A casca foi obtida por despolpa manual das frutas, com a finalidade de aumentar o rendimento de pó e diminuir os danos que a casca sofreria por despolpa mecânica. A despolpa manual proporcionou um rendimento de casca fresca em relação à fruta *in natura* de 25%.

Depois do processo de secagem, a moagem em moinho IKA equipado com lâmina tipo "batedor" proporcionou a obtenção de um pó com granulometria de 100 micra, facilitando assim as reações químicas, pois com isso há um aumento da área de contato e quanto maior essa área, mais veloz ocorrerá à reação.

A secagem das cascas de umbu e cajá-umbu foi realizada a 30°C durante 30 hs, sendo o comportamento representado no gráfico da Figura 11 . A curva de secagem foi obtida para se verificar a eficiência do processo uma vez que a literatura (CIAGRI, 2008) recomenda o uso de temperatura ambiente em regiões que tenham condições climáticas favoráveis, relacionadas principalmente à alta ventilação e temperatura, com baixa umidade relativa. A secagem em temperatura ambiente é o modelo mais econômico e apresenta bons resultados em climas secos e quentes quando na época da colheita e secagem (CIAGRI, 2008), visando evitar a degradação dos compostos voláteis das cascas.

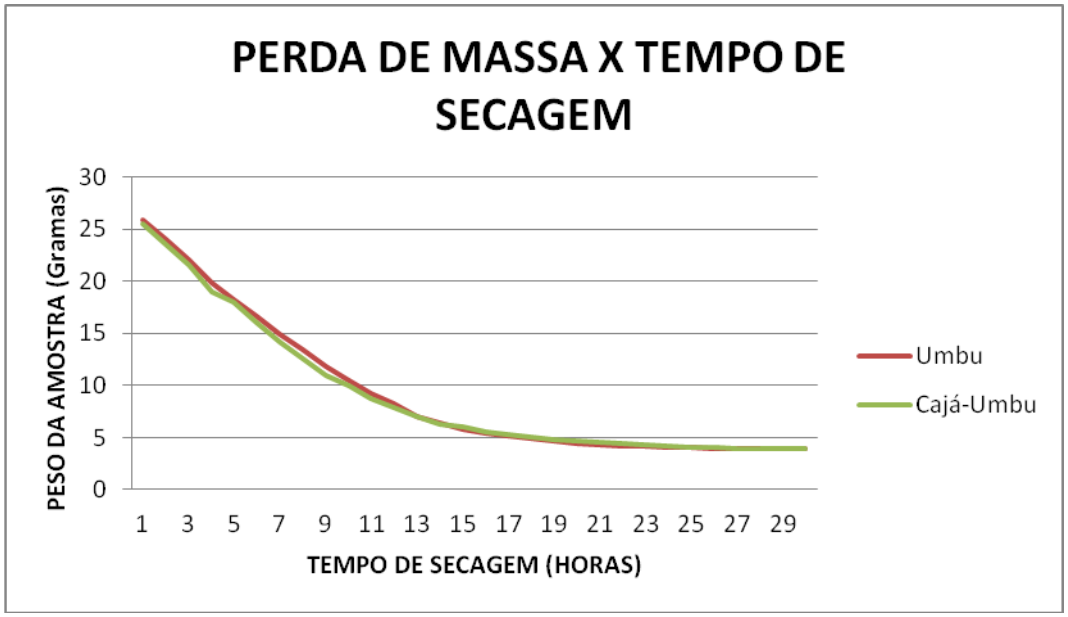


Figura 11 – Perda de Massa de casca de cajá-umbu e umbu durante a secagem

A perda de massa para umbu e cajá-umbu foram de 84,66 e 84,40%. Na Figura 12 é possível visualizar o aspecto físico dos pós que foram obtidos a partir das cascas dos frutos em estudo. Costa *et al*, (2005) sugeriram que quanto maior o estado de fragmentação do material vegetal, mais importância ele tem na otimização extrativa, pois os compostos ativos estarão mais expostos

Blanco *et al*, (2010) constataram que temperaturas mais baixas são necessárias para evitar a degradação dos óleos voláteis de alecrim, o qual é muito importante para plantas aromáticas. No caso dos óleos essenciais de alecrim a utilização de temperaturas de secagem de 60ºC e 80°C causou uma queda de rendimento e qualidade de óleos essenciais de 24% e 49%, respectivamente, em comparação a temperatura de 40°C. Confirmando assim o afirmado por Hertwig (1991) o qual observou que temperaturas superiores a 40°C proporcionam aos órgãos vegetais maiores perdas de rendimento de óleo no produto seco. Os dados confirmaram também, os resultados reparados por Deans & Svoboda (1992) que ao secarem várias espécies de ervas aromáticas, inclusive o alecrim, em temperaturas que variaram de 40 a 100°C, obtiveram em todos os casos diminuição do teor de óleo essencial com o aumento da temperatura.

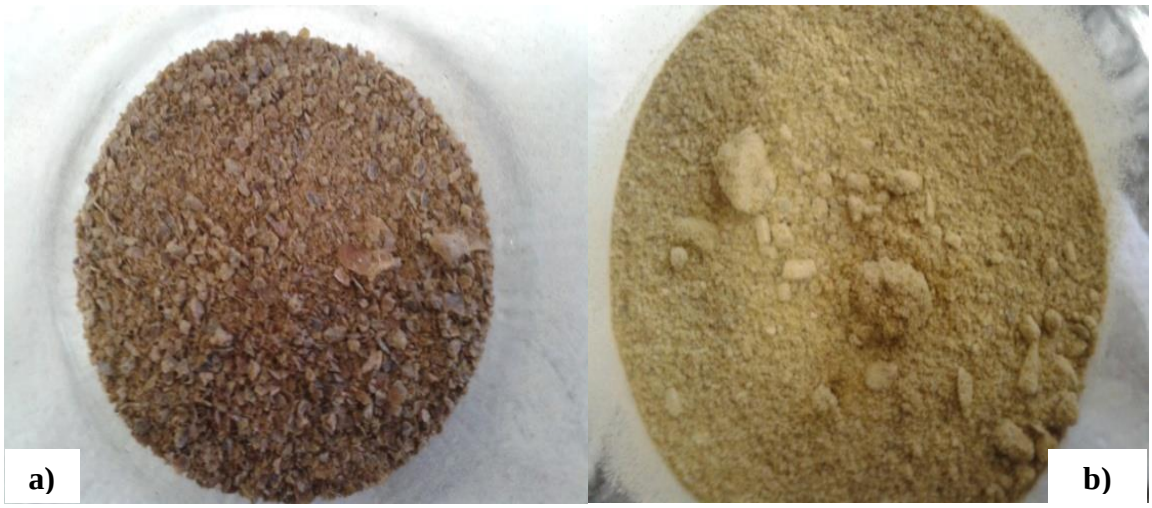


Figura 12 – Cascas secas e trituradas: a) Cajá-Umbu e b) Umbu.

5.2 Otimização do método cromatográfico

Um dos problemas mais comuns para quem realiza experimentos é a influência das diversas variáveis na resposta final do experimento. Na cromatografia a gás podem interferir na detecção dos compostos fatores como: solvente, modo e temperatura de injeção, pressão no injetor, volume de injeção, fluxo do gás e condições da coluna.

Durante os experimentos alguns desses fatores foram testados com a finalidade de adaptar o método cromatográfico de análise, visando uma resposta (sinal analítico) satisfatória. Inicialmente foi testada a condição da coluna HP-5ms, depois de receber condicionamento a uma temperatura calculada em relação a sua temperatura máxima de análise. Após o condicionamento a eficiência de separação da coluna foi avaliada por meio da análise do OE de laranja, em injeção no modo split (em razão 1:100) com inserção de1 µL da amostra. A escolha do OE de laranja foi feita, pois se trata um OE cítrico de amplo estudo, rendimento de extração elevado e fácil obtenção pela técnica clássica de extração em sistema de Clevenger.

Com a coluna apresentando eficiência de separação satisfatória foi dado sequência nos testes com a análise dos extratos de interesse no presente trabalho. Todos os extratos obtidos foram avaliados quanto ao volume de injeção e razão de split, nas mesmas condições de temperatura de injetor e programação de forno, aplicados ao OE de laranja. Os primeiros fatores avaliados foram o volume, pressão do injetor e o fluxo de gás na coluna. O fluxo de gás foi mantido constante. Os volumes de injeção testados foram 0,2 µL, 0,5 µL e 1 µL. Em relação a melhora na intensidade do sinal foram realizados testes com diversos modos de partição da amostra: 1:50, 1:10, 1:5, 1:1 e ainda no modo splitless. Os melhores resultados foram obtidos para o método que operava no modo split 1:1 e volume de injeção de 1 µL. Sabin, (2011) enquanto estudava o aumento da resposta analítica de um cromatógrafo em fase gasosa, por meio da otimização do sistema de injeção, chegou a conclusão que otimizações no volume de injeção e seu particionamento no injetor aumentam a intensidade do sinal analítico, diminuindo a necessidade de elevadas técnicas de pré-concentração da amostra.

Também foram aprimoradas as quantidades de injeção para os padrões de alcanos (C9-C26) e dos 23 padrões terpênicos. Primeiramente os padrões de voláteis foram injetados na quantidade de 1 µL, onde ocorreu a formação de “caldas frontais” no

início dos picos, sendo esses um dos fatores de indicação de saturação de amostra em uma coluna cromatográfica. O condição analítica dos padrões que demonstrou resultados satisfatórios foi volume de injeção de 0,2µL e split = 1:100.

5.3 Obtenção dos óleos essenciais

5.3.1 Hidrodestilação

Na hidrodestilação foi usado o extrator de Clevenger. As cascas imersas em água destilada foram submetidas ao aquecimento (100 ºC) durante o período máximo de 3 horas. Durante este tempo foi perceptível através do olfato a alteração do aroma típico dos frutos em estudo. À medida que o processo de refluxo e destilação foi ocorrendo, um desagradável odor de "cozido" foi se intensificando. Ao final da 3ª hora a fração aquosa obtida foi recolhida e submetida à extração líquido-líquido em funil de separação usando-se como fase orgânica o solvente éter etílico. Na sequência, o solvente foi evaporado e constatou-se que não houve extração de óleo essencial ou este ocorreu em nível traço. Isso impossibilitou continuidade do trabalho de análise e caracterização química óleo essencial.

Com os resultados obtidos na hidrodestilação para ambas as frutas, umbu e cajá-umbu, sugere-se que as cascas dessas frutas possuem uma concentração extremamente baixa de óleos essenciais e que os esses óleos são termolábeis, ou seja, facilmente degradados à temperaturas mais elevadas, comportamento esse relatado em trabalhos como o de Yang *et al* (2007) que estudou a estabilidade de alguns terpenos, entre eles limoneno, a-pineno e carvacrol, em função da temperatura subcrítica (100, 150, 200 250°C) da água utilizada no processo de extração. Ele observou que a 100 º C as recuperações destes terpenos ficaram em torno de 80 % e foram decaindo à medida que a temperatura aumentava. A queda de rendimento indicou a presença de processos degradativos ocorrendo devido a baixa estabilidade dos terpenos em altas temperaturas agravada pelo fator tempo de exposição (duração da extração).

Montanari (2010) relata em seu trabalho de doutoramento que na família Anacardiaceae, a qual pertence o gênero Spondias, é comum a baixa concentração ou mesmo ausência de óleos essenciais em órgão da planta que são, caracteristicamente, produtores de OEs. Shimizu (2006) relata em seu trabalho de caracterização química

que para as folhas de *Litharae molleoids* (Anacardiaceae) não foi possível detectar a presença de óleo essencial.

5.2.2 Extração por solvente aquoso

Diante da impossibilidade de se utilizar o método tradicional para extração de óleo essencial via hidrodestilação em extrator de Clevenger novas técnicas foram testadas. Entre as técnicas alternativas selecionadas esta a extração aquosa á frio proposta por Almeida (2009), no entanto no presente trabalho a recuperação do OE da fração aquosa foi via SPE, diferindo do trabalho citado que empregou a extração líquido-líquido. Nessa técnica o fruto intacto previamente higienizado é colocado em contato direto com a água destilada e submetido a o resfriamento a 4 º C em geladeira onde permanece por um período de 24 horas. Decorrido esse tempo para a recuperação do OE foi empregado a técnica de SPE com cartucho C18 e solvente de eluição etanol e hexano. Nessa etapa foram coletadas 3 frações, sendo duas com solvente polar e uma apolar. As frações de álcool etílico foram reunidas em uma fração única. Ambas as frações, polar e apolar foram concentradas sob fluxo de N_2 e levadas para análise. Após serem analisadas em CG/EM foi observado que a recuperação do OE não foi satisfatória. Os cromatogramas de íons totais (CIT) obtidos indicam níveis de concentração dos compostos de interesse na escala de ruído do método analítico empregado o que inviabiliza a identificação positiva dos compostos de interesse. Já Almeida (2009) usando a extração líquido- líquido para recuperação do EO identificou por IRL (Índice de Retenção Linear) e CG/EM os compostos α-terpineol, 6,7-dihidro-7-hidroxilinalool, Canfeno e β-Linalool. O perfil dos CIT obtidos no presente estudo pode ser visualizado nas Figuras 13 e 14.

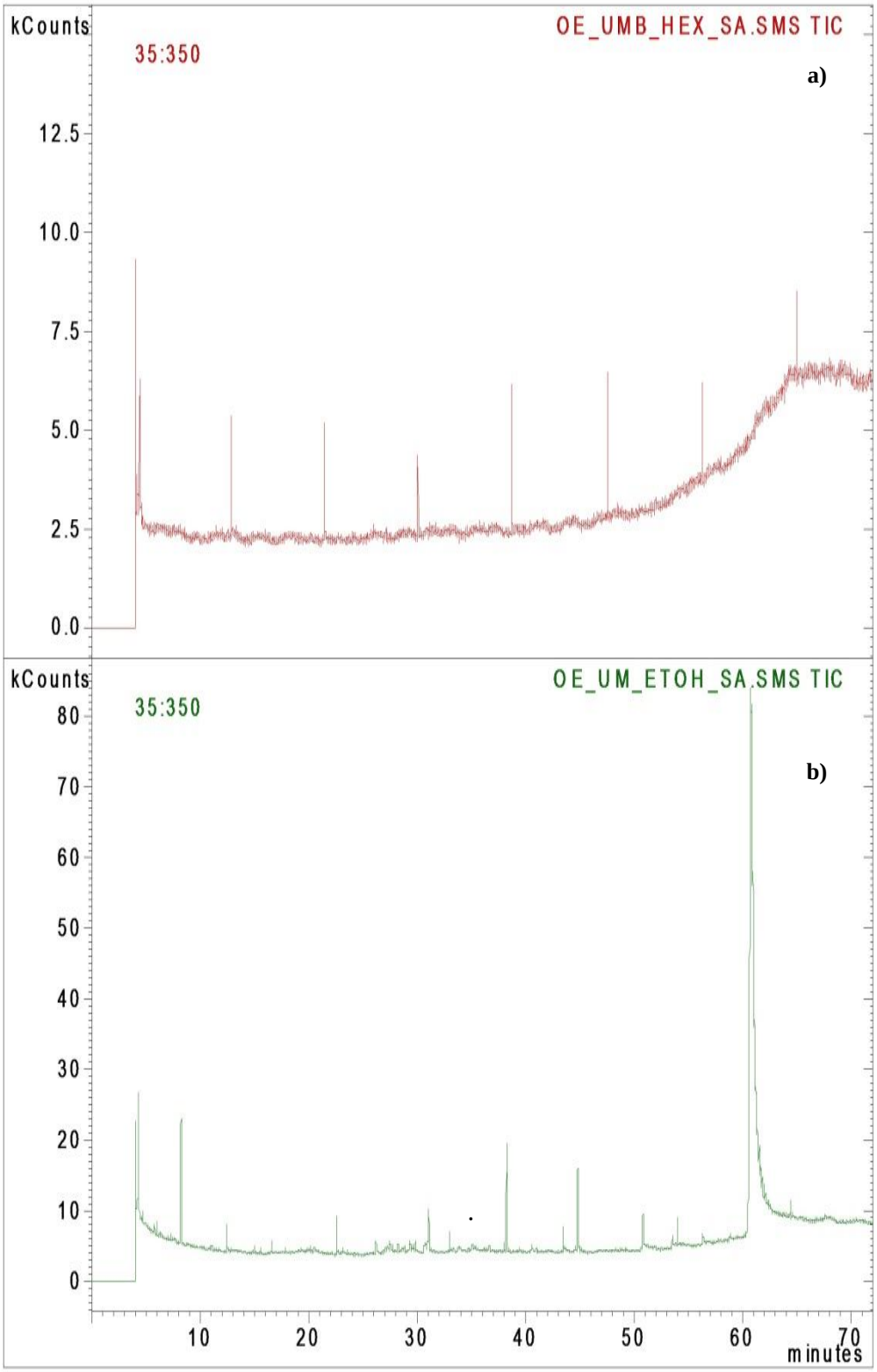


Figura 13 – CIT de umbu. a) Em hexano e b) Em etanol

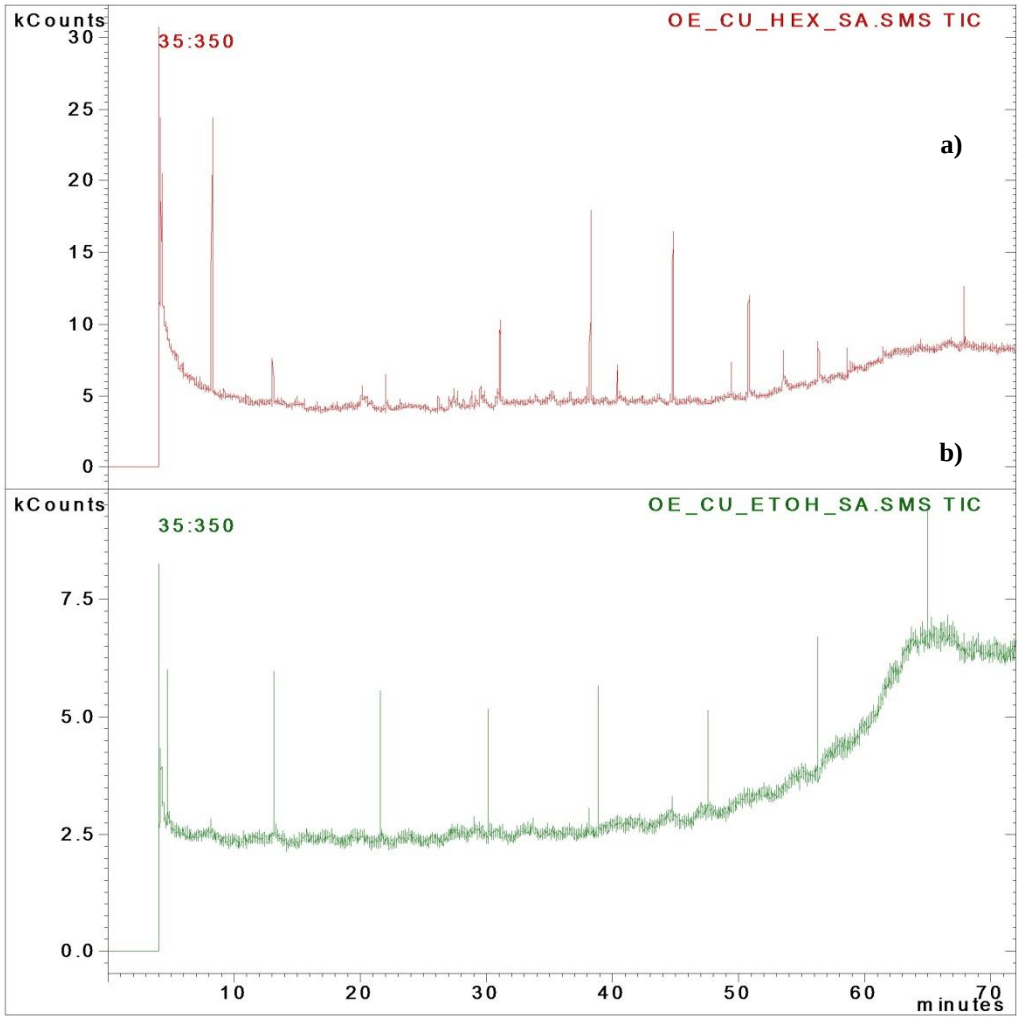
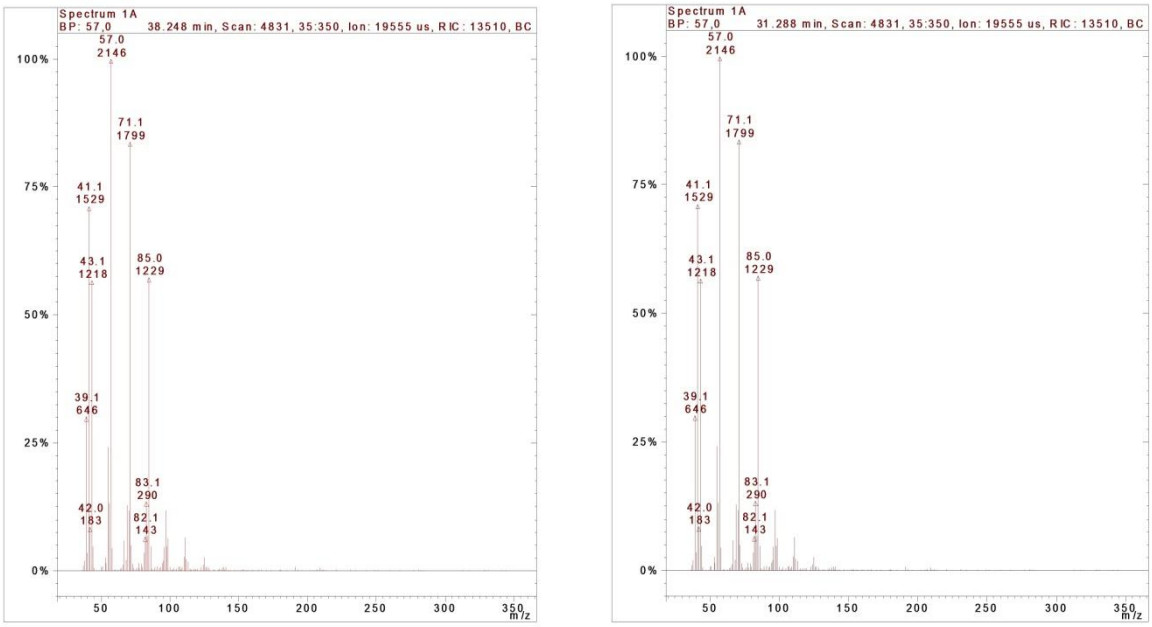


Figura 14 – CIT de cajá-umbu. a) Em hexano e b) em etanol.

Nas Figuras 13 e 14 é possível observar, nos extratos em hexano, alguns picos cromatográficos com intensidade de sinal baixa e próxima a linha do ruído. Esses picos se repetem em tempos de retenção diferentes embora com espectro semelhante segundo comparação com espectros fornecidos pela biblioteca NIST. Os espectros desses compostos podem ser visualizados na Figura 15. Sugere-se que estes compostos sejam artefatos gerados durante o processo de análise.



(a) **(b)**

Figura 15 – Espectro do composto 2-hexil-2-octanol observado nos tempos de retenção (a) 31,025 min e (b) 38,250 min.

5.2.3. Extração com Solventes Orgânicos

A extração por solventes não foi a primeira opção de extração deste projeto, já que o objeto inicial era de se obter óleos essenciais de cascas de *Spondias* com a finalidade de microencapsulamento do mesmo visando obter um produto de alto valor agregado aplicável à indústria de alimentos. Porém, diante das tentativas anteriormente citadas terem falhado buscou-se a extração por solvente.

5.2.3.1 Extração por *Enfleurage*

A extração pelo método *Enfleurage* também foi testada com o intuito de se recuperar os OE das *Spondias* umbu e cajá-umbu. A referida técnica foi selecionada em função de ser muito utilizada para recuperar óleos essenciais de pétalas de flores que têm elevada volatilidade e termo-labilidade. Não foi encontrado na literatura seu uso para qualquer outro fim que não o de extração de aroma de flores daí a dificuldade de comparar quaisquer resultados obtidos.

Na presente extração os frutos foram colocados em contato com a matriz lipídica, nesse caso banha suína, com o intuito de que os aromas voláteis saturem o recipiente extrator. Essa atmosfera satura pelos aromas vai ser incorporada, por afinidade, a matriz lipídica. Para se concentrar os aromas na matriz é realizada a substituição da matéria prima de interesse, a cada 48 horas, até que a matriz sature. Esse processo tem duração variada e pode ocorrer em uma semana ou em até um mês. Depois de saturada a matriz extratora lava-se a mesma com solvente orgânico polar, no caso etanol, por repetidas vezes para recuperar os compostos voláteis.

Na extração por *enfleurage* das frutas em estudo foi perceptível a transferência do aroma das frutas para matriz lipídica e, na sequência, à recuperação desses mesmos aromas no solvente polar etanol. No entanto, quando os extratos foram submetidos à análise em CG/EM não foi observada a eluição e detecção em intensidade de sinal distintos do nível de ruído da análise. Sendo assim, foi formulada a hipótese de que os compostos característicos dessas frutas, presentes no óleo essencial, são fortemente afetados pela temperatura do injetor do CG/EM que foi superior a 200 ºC. No entanto, não havendo estudos anteriores que versem sobre a composição química dos óleos essenciais de umbu e cajá-umbu e de seu comportamento frente a temperaturas elevadas não é possível confirmar essa observação.

5.2.3.2 Extração com Hexano

A extração com hexano foi realizada conforme descrito no item 4.4.2.4. Os resultados não mostraram a presença de compostos voláteis, como pode ser visto nos cromatogramas da Figura 16. Apesar de o extrato apresentar aroma característico as frutas, sugere-se que, como dito anteriormente, esses compostos possuam uma alta instabilidade térmica causa sua degradação durante a etapa de concentração como a rotaevaporação ou ainda degradação ao entrarem em contato com a alta temperatura do injetor. Outra possível causa seria que os compostos da casca não tenham afinidade com o hexano ou que a quantidade utilizada na extração tenha sido insuficiente para provocar a extração desses compostos. Arce, (2006) em um estudo sobre quais solventes são mais eficientes na extração de óleos essenciais, sejam solventes orgânicos ou líquidos iônicos, chegou a conclusão que alguns solventes orgânicos, como o hexano, a depender da concentração dos compostos na

amostra, uma quantidade de solvente orgânico baixa pode não permitir uma boa eficiência de extração.

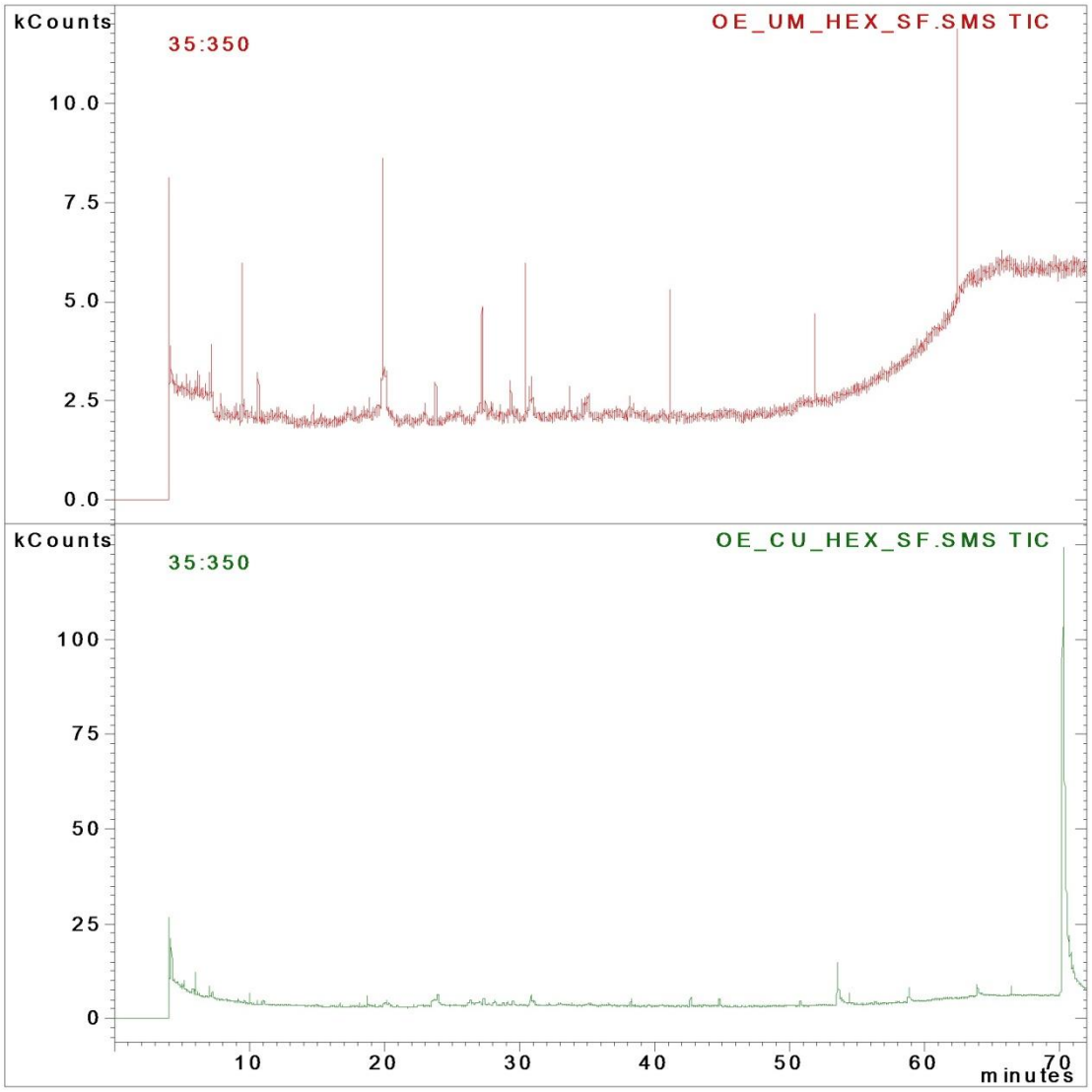


Figura 16 – CIT da extração com Hexano para Cajá-Umbu e umbu

5.2.3.3 Extração com Acetato de Etila

A extração com acetato de etila foi realizada conforme o fluxograma da Figura 8 para os dois pós de casca, porém apenas o extrato de cascas de cajá-umbu foi injetado por problemas técnicos. O CIT obtido é apresentado na Figura 17.

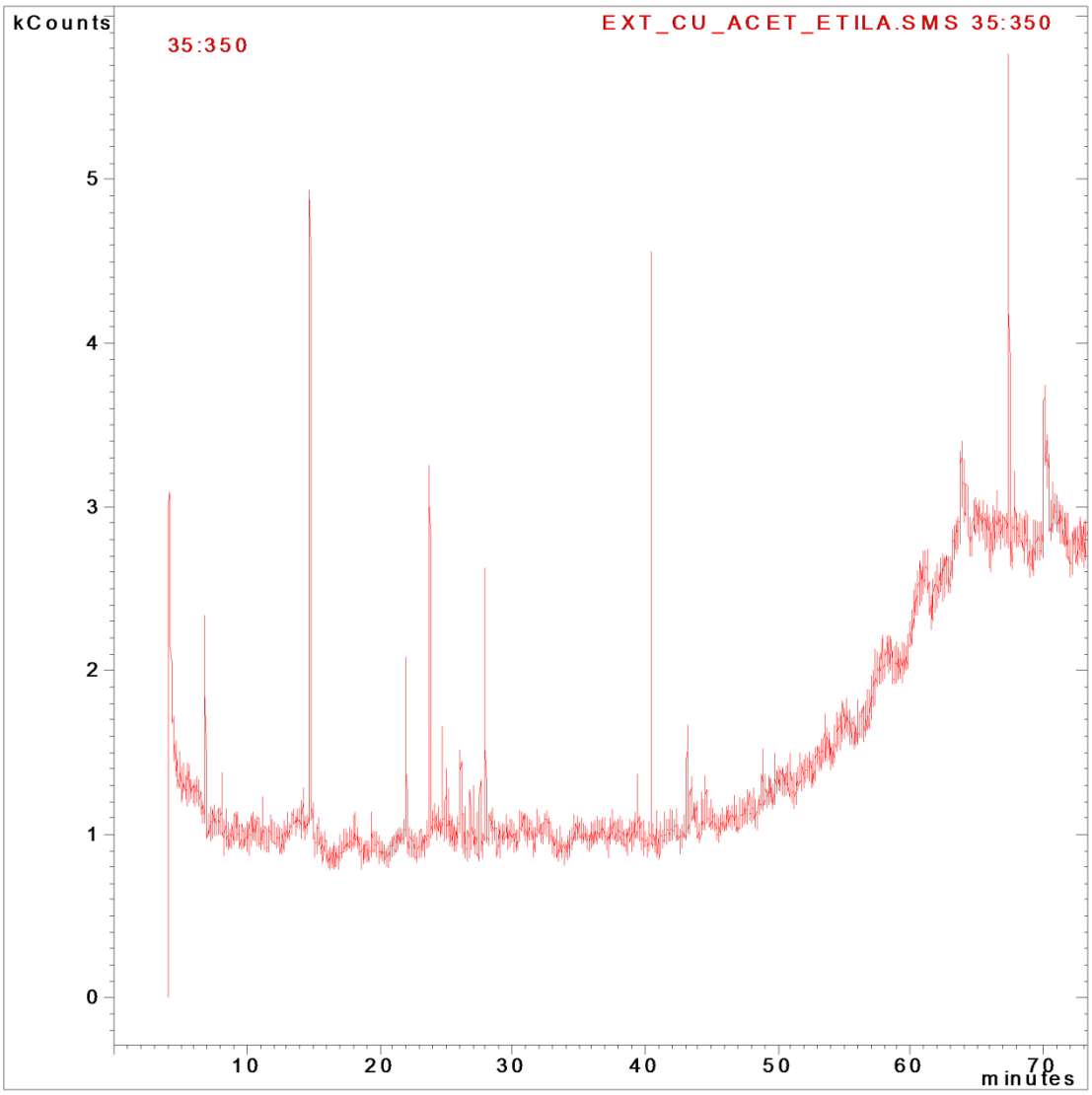


Figura 17 – CIT da extração com Acetato de Etila para Cajá-Umbu

No CIT é notável a baixa intensidade do sinal o que caracteriza que a extração foi ineficiente, porém ainda foi possível identificar alguns compostos de interesse como mostrado na Tabela 4 adiante. Sugere-se que a ineficiência da extração possa ter sido ocasionada pelo solvente de extração com características muito mais polares, já que o Acetato de Etila possui uma constante dielétrica de 37,5, enquanto o hexano possui 1,83 sendo extremamente apolar e o 1,4-Dioxano possui constante dielétrica de 2,3 bem menos polar que o acetato de etila (ARCE, 2006).

5.2.3.4 Extração com 1,4 Dioxano com SPE

Assim, como na extração utilizando o solvente hexano não foi possível extrair compostos voláteis, a extração com 1,4 – dioxano seguido de SPE foi realizada para cajá-umbu e umbu conforme metodologia proposta por Dawidowicz e Raddo (2010) para extração de óleos essenciais em ervas, descrita no item 4.4.2.5. O extrato bruto obtido após 30 min de contato do pó das cascas com 1,4 - dioxano foi eluído em cartucho de SPE (C18) previamente condicionado, de acordo com o item 4.4.2.5, onde foram recolhidas duas frações: a primeira em metanol que tinha o objetivo de despigmentar a amostra retida no cartucho e uma segunda fração em uma solução de hexano + acetato de etila (9:1) para o arraste dos compostos voláteis. Foram coletadas 5ml de ambas as frações armazenadas em frasco âmbar a temperatura de -18°C, que foram concentradas até o volume de 1mL em N_2 para aumento da concentração. Os resultados obtidos não foram satisfatórios, para a fração em metanol, o que já era esperado pela ausência de aroma na fração. Enquanto que para a fração hexano + acetato de etila, a resposta analítica apresentou uma quantidade pequena de compostos como pode ser vista na Tabela 4, o cromatograma da fração Hexano:Acetato de Etila é apresentado na Figura 18.

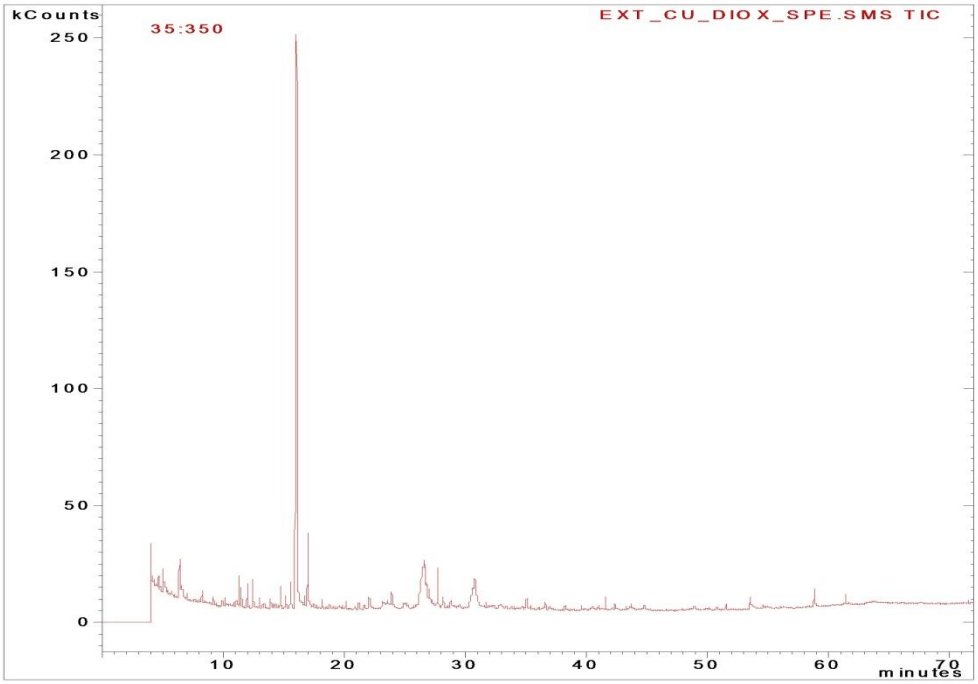


Figura 18 – CIT do extrato obtido por 1,4 – Dioxano seguido de SPE em cartucho C18

Apenas poucos compostos puderam ser identificados devido a uma baixa intensidade de sinal (valores < 25kcounts) analítico indicando a ineficiência da extração dos analitos de interesse.

5.2.3.5 Extração com 1,4 – Dioxano

Como os resultados com 1,4 – dioxano seguido de SPE não atingiram níveis de sinal analítico satisfatórios foi realizada uma adaptação da metodologia acima citada. Foi retirada a etapa de SPE e o extrato 1,4 –dioxano, após o tempo de repouso de 30min e filtração por uma membrana de 0,22µm foi analisado diretamente em GC/EM. Com essas alterações foi possível atingir sinais analíticos superiores a 200 kCounts, valor que foi considerado satisfatório para garantir uma identificação segura da composição química do OE obtido, sem interferências dos sinais provenientes do ruído gerado na análise. O CIT de cajá-umbu, referente a essa extração, pode ser visto na Figura 19.

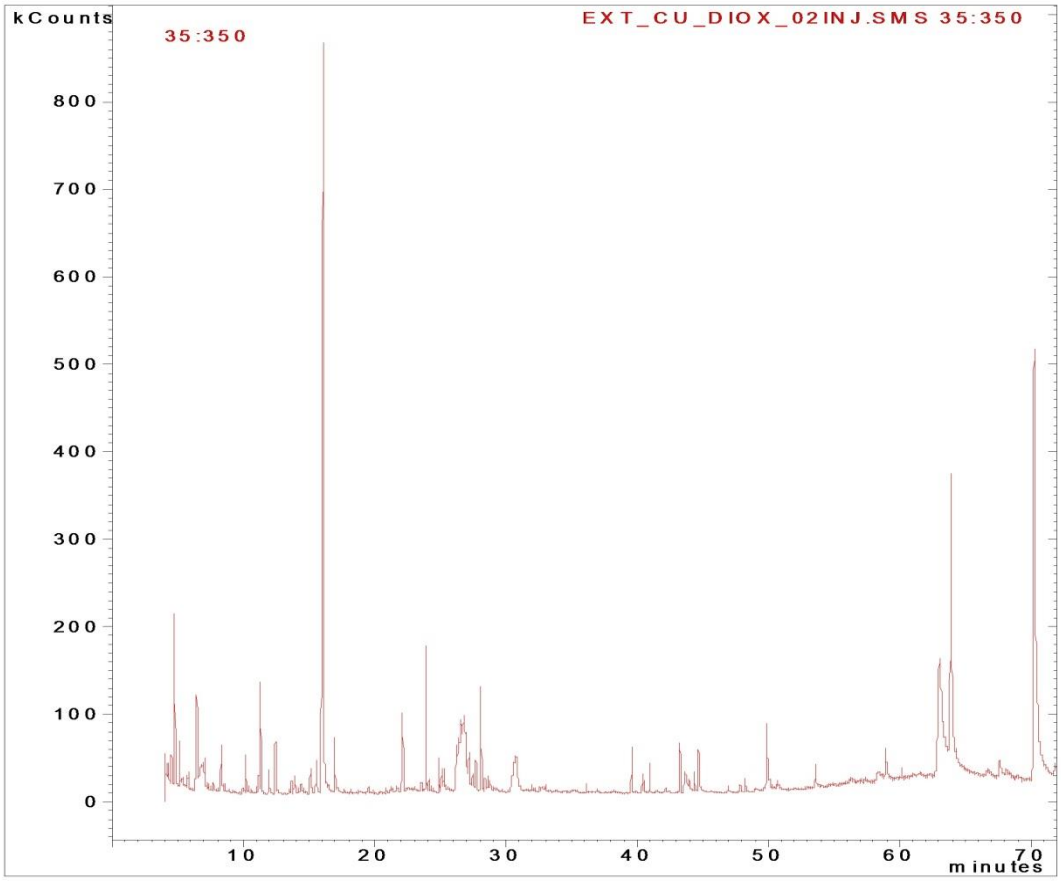


Figura 19 – CIT do extrato da extração por 1,4 - Dioxano do cajá-umbu

Para esse extrato foram tentativamente identificados usando como ferramentas a análise de espectros de massas, índice de retenção linear calculado pela injeção de padrões de alcanos e padrões terpênicos, literatura e databases online, vários compostos para a casca do cajá-umbu. A Tabela 4 compila os compostos identificados

Com o sucesso da extração, a técnica da extração foi extendida ao umbu onde também observou-se um boa quantidade de picos com identificação tentativa positiva para diversos constituintes de interesse, o CIT do umbu poder ser visualizado na Figura 20.

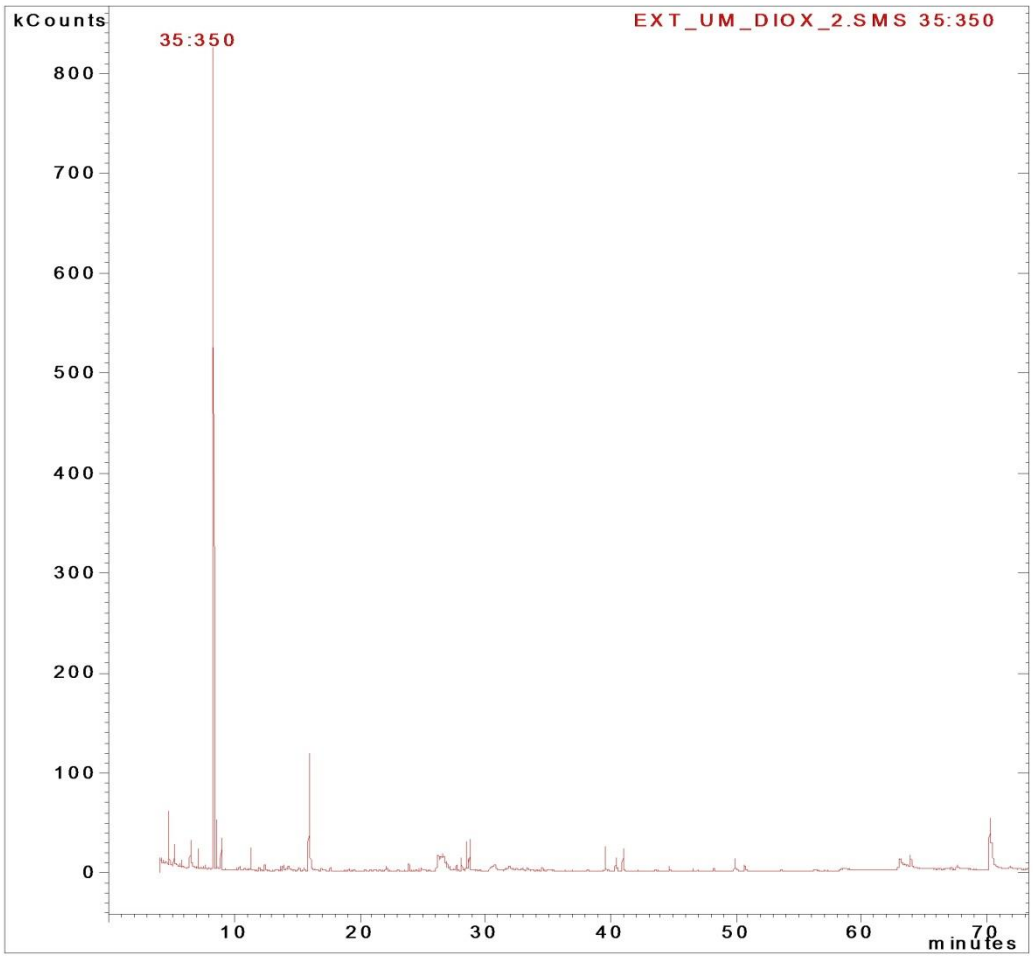


Figura 20 – CIT do extrato da extração por 1,4-Dioxano do umbu

Os compostos identificados para ambas às frutas estão dispostos na Tabela 4 assim como suas área e IRLs. Para a extração com 1,4 – Dioxano foram encontrados diversos compostos aromáticos como ésteres, alcoóis, cetonas e hidrocarbonetos. Porém deve-se ressaltar a presença de uma variedade de terpenos, constituinte importante dos óleos essenciais.

Tabela 4 – Composição volátil das cascas para todas as extrações

			Extração c/ 1,4-Dioxano		Extração com Acetato de Etila		Extração c/ 1,4-Dioxano c/SPE	
Composto	**IRL $_{exp}$**	**IRL$_{ref}$**	**Cajá-Umbu (%)**	**Umbu (%)**	**Cajá-Umbu (%)**	**Umbu (%)**	**Cajá-Umbu (%)**	**Umbu (%)**
Terpenos								
α-Pineno	940	932	-	0,004	-	!	-	!
β-Pineno	993	994	0,041	0,010	-	!	-	!
Mirceno	985	988	-	-	6,462	!	-	!
β-trans-ocimeno	1047	1044	-	0,036	-	!	-	!
2-δ-Careno	1001	1001	0,027	0,002	-	!	-	!
3-δ-Careno	1017	1017	0,211	0,004	-	!	-	!
α-Felandreno	1002	1007	0,011	0,003	-	!	-	!
Limoneno	1029	1024	0,145	98,853	1,883	!	5,599	!
Terpineno	1058	1059	-	0,001	-	!	-	!
Cubebeno	1369	1369	-	-	9,270	!	-	!
θ-cimeno	1025	1022	0,483	0,004	-	!	-	!
Terpinoleno	1085	1086	4,428	0,005	-	!	-	!
(Cis- ρ-1), 7,8-Mentha-dienol	1236	1227	-	-	-	!	1,259	!
Geranial	1266	1264	-	-	-	!	3,998	!
α-Ylangeno	1368	1373	0,281	0,003	-	!	0,521	!
α-Copaeno	1372	1374	4,464	0,002	-	!	0,684	!
Longipineno	1405	1400	-	-	-	!	58,170	!
Cariofileno	1415	1417	6,173	0,012	18,087	!	13,256	!
Aromadendreno	1436	1439	-	-	7,134	!	-	!
Aloaromadendreno	1444	1454	1,553	0,004	-	!	-	!
α-Cariofileno	1449	1452	0,871	-	-	!	-	!
Cumacreno	1469	1469	-	-	4,521	!	-	!
γ-Amorfeno	1495	1495	3,298	-	2,156	!	-	!
γ-Muuroleno	1509	1500	4,523	0,007	-	!	-	!
Himacheleno (α-dehidro)	1516	1516	-	-	13,447	!	-	!
Zonareno	1518	1518	-	0,013	-	!	-	!
Nootkateno	1520	1522	5,081	0,021	-	!	-	!
δ-Cadineno	1530	1533	4,703	0,044	-	!	-	!

Cembreno A	1952	1947	2,127	-	5,926	!	-	!
Kaur-16-eno	1987	1997	0,794	-	-	!	-	!
Guaiadieno	1440	1440	-	0,007	-	!	-	!
3,7-Eudesmadieno	1538	1535	-	0,046	-	!	-	!
Silphiperfol-5en-3-one-B	1554	1553	-	0,002	-	!	-	!
Biciclo[4.2.0]oct-1-ene, 7-exo-etenil-	1036	*	1,527	-	-	!	-	!
Ésteres, Cetonas								
Acetato de Isobutila	1109	1109	0,706	0,003	-	!	-	!
Acetato de Etila	910	910	1,644	0,065	-	!	-	!
1-Hidroxi-2-Butanona	945	*	-	0,002	-	!	-	!
Dihidro-3-metil-ene-2,5 Furandiona	947	*	0,235	0,008	-	!	-	!
Acetato de n-butila	1110	1110	-	0,002	-	!	-	!
Furil-hidroxi-metil- cetona	1082	*	0,500	0,002	-	!	-	!
4-metil-4-fenil-ácido butirico metil ester	892	*	-	0,003	-	!	-	!
5,6-Dihidro-2H-piran-2-ona	1126	*	0,333	-	-	!	-	!
4-Isopropoxi-2-butanona	1170	*	0,618	-	-	!	-	!
Ciclopentanona	1182	1183	-	0,009				
3,5-Dihidroxi-6-metil-2,3-dihidro-4H-piran-4-ona	1140	*	0,460	0,014	-	!	-	!
4,5-Dimetilciclohexen-2-ona	1175	*	0,117	0,008	-	!	-	!
2,4-Dimetil-3-pentanol acetato	1177	*	1,531	0,009	-	!	-	!
4-sec-Butoxi-2-butanona	1171	*	-	0,006	-	!	-	!
3-hidroxi -Etil -hexanoato	1127	*	-	0,003	-	!	-	!
2-Dioxolona	895	*	-	0,002	-	!	-	!
Etil 2,3-epoxi-butirato	1068	*	-	0,001	-	!	-	!
Linalil isobutirato	1100	*	-	0,002	-	!	-	!
Ácido fenilacético ciclobutil ester	1044	*	-	0,001	-	!	-	!

1,1 – dimetoxi-octanona	1183	1175	1,540	-	-	!	-	!
1,4-Dimetil-3-pirazolidinona	1001	*	-	0,044	-	!	-	!
Aminas								
N,N-Diamilmetilamina	1002	*	-	0,001	-	!	-	!
1-Propanamina	970	*	0,651	-	-	!	-	!
Alcoóis								
Álcool Benzílico	1033	1026	0,126	-	-	!	-	!
Nonanol	1105	1097	-	0,001	-	!	-	!
3-Fenil-2-Butanol	894	*	0,297	-	-	!	-	!
1,4 - Dioxanol	908	*	5,163	-	-	!	-	!
1,3-Dioxanol	886	896	0,686	0,003	-	!	-	!
4-Etil-ciclohexanol	897	*	-	0,002	-	!	-	!
2,6-Dimetil-7-octen-3-ol	1164	*	-	0,001	-	!	-	!
3-metil - 1,2-Ciclopentanediol	943	*	0,167	-	-	!	-	!
(2E)-3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecenol	1874	*	0,460	-	-	!	-	!
Hidrocarbonetos aromáticos, Fenóis								
1-etil-3-metil-benzeno	997	1006	0,044	-	-	!	-	!
Tirosol	1421	1417	0,657	-	-	!	-	!
α,β-Dihidroxietilbenzeno	1420	1421	-	0,001	-	!	-	!
Lactonas, Aldeídos, Ácidos carboxílicos								
γ-Cronolactona	923	924	0,167	0,029	-	!	-	!
Decanal	1182	1181	-	0,004	-	!	-	!
2-metil-benzaldeído	1211	*	-	0,009	-	!	-	!
Ácido Hexanedióico, 2-metil-5-metilene-, dimetil ester	1263	1253	-	0,004	-	!	-	!
Acetoacetato de Isobutila	971	*	-	0,049	-	!	-	!
2,3-Dihidroxipropanal	975	*	-	0,016	-	!	-	!
1,4:3,6-Dianidro-α-d-glucopiranose	1201	*	1,530	0,012	-	!	-	!
Hidroximetilfurfural	1225	*	20,940	0,271	-	!	-	!
N-(1-Biciclo[2.2.1]hept-2-il-etil)-butiramida	902	*	0,027	-	-	!	-	!
(1E)-dietihidrazona -Propanal	1040	*	-	0,001	-	!	-	!
2-Pentadecil-1,3-dioxepane	1184	*	-	0,003	-	!	-	!

Levoglucosenona	1112	*	2,200	0,036	-	!	-	!
Dihidro-3-metilene-2,5-furandiona	947	*	2,790	0,008	-	!	-	!
2-Isopropil-1,3-dioxolane	1299	*	-	0,003	-	!	-	!
Hidrocarbonetos								
n-Pentadecano	1519	1512	-	0,030	-	!	2,447	!
3-Isobutil-Ciclohexeno	1317	*	0,336	-	-	!		!
2,3-Dimetil-octano	1128	*	-	0,002	-	!	-	!
Diciclopentadieno	1027	1020	1,365	-	-	!	-	!
Butil(acetil)acetileno	967	*	-	0,007	-	!	-	!
Compostos não identificados								
N.I.	895		0,203	-	-	!	-	!
N.I.	1211		0,054	-	-	!	-	!
N.I.	1476		0,931	-	-	!	-	!
N.I.	1486		1,065	-	-	!	-	!
N.I.	1490		4,243	-	-	!	-	!
N.I.	1623		2,090	-	-	!	-	!
N.I.	1839		1,405	-	-	!	-	!
N.I.	1864		2,081	-	-	!	-	!
N.I.	1116		-	0,012	-	!	-	!
N.I.	1233		-	0,054	-	!	-	!
N.I.	1407		-	0,002	-	!	-	!
N.I.	1037		-	0,004	-	!	-	!
N.I.	1425		-	0,080	-	!	-	!
N.I.	1561		-	0,030	-	!	-	!
N.I.	1197		-	-	16,409	!	-	!
N.I.	1863		-	-	14,704	!	-	!
N.I.	1110		-	-	-	!	1,531	!
N.I.	1275		-	-	-	!	1,094	!
N.I.	2001		-	-	-	!	11,442	!
N.I.	2098		1,376	-	-	!		!
Total			100%	100%	100%		100%	

IRL $_{exp}$ - Índice de retenção linear calculado com base em uma mistura padrão de hidrocarbonetos C9-C26.

IRL$_{ref}$- referente a dados da literatura obtidos para colunas apolares HP-5 como reportado Adams (2007), Ceva-Antunes (2003), Kowalski (2007) e também calculados por injeção de padrões autênticos.

*****Compostos com esse símbolo foram identificados apenas por comparação de espectros, já que não foram encontrados dados na literatura sobre seus índices de retenção linear.

! – Extrato desta fruta ainda não foi analisado por problemas técnicos

Conforme a Tabela 4 a classe de compostos com maior representabilidade foram os terpenos, tanto para o cajá-umbu, quanto para o de umbu. Foi observado que para cajá-umbu a variedade de terpenos foi menor, mas a distribuição de suas concentrações foi maior, sendo que 19 compostos foram identificados nesse óleo somente.

Para a casca de cajá-umbu os terpenos de maior concentração foram o Cariofileno seguido pelo α-Copaeno. Em um dos poucos trabalhos sobre óleos essenciais de *Spondias* existentes relativos a folhas, Lemos *et al* (1995) encontraram para o OE das folhas da árvore de umbu (*Spondias Tuberosa*) o 3-hexanol (13.56%), α-copaeno (13.25%), β-cariofileno (50.01%) and δ-Cadineno (10,29%), como sendo os de maior concentração. Os compostos encontrados por Lemos *et al* (1995) foram detectados na extração com 1,4–dioxano do presente estudo em concentrações inferiores a 0,2%.

Almeida (2009) usando a extração aquosa a frio seguida de recuperação do EO com extração líquido-líquido identificou por IRL (Índice de Retenção Linear) e CG/EM os compostos α-terpineol, 6,7-dihidro-7-hidroxilinalool, Canfeno e β-Linalool, no entanto no presente estudo esses compostos não foram positivamente idenficados.

De acordo com a Tabela 4 o óleo essencial de cajá umbu, extraído com 1,4-dioxano, foi caracterizado em termos de concentração pelos compostos terpinoleno, a-copaeno, cariofileno, g-amorfeno, g-muuroleno, nootkateno, d-cadineno, 1,3-dioxanol, cujas concentrações variaram entre 3 e 6 %. O terpinoleno é um monoterpeno insolúvel em água, aroma de citrus suave e caracteriza-se por apresentar atividade antioxidante elevada semelhante a de a-tocoferol e b-caroteno.(HANDBOOK OF ESSENTIAL OILS, 2010). O copaeno é um sesquiterpeno, possui atividade antiinflamatória e elevado valor agregado devido ao seu uso agrícola como parte integrante da composição de pesticidas; em alimentos é um dos odores chaves em cenoura e alface. O composto carbonílico *nooteketone*, característico do aroma de *grape fruit* é também responsável por atividades fungicidas em muito OEs. O sesquiterpeno cariofileno é encontrado em inúmeros óleos essências entre eles o óleo de copaíba (*Copifera*) muito empregado em fitoterapia e nos OE da espécie Eugênia. (VEIGA, 1997).

Na extração em acetato de etila para o caja-umbu, foram encontrados terpenos, como o cariofileno, em teor de 18 %, no entanto, essa extração recuperou apenas 9 diferentes compostos o que justifica o valor elevado de teor para cariofileno determinada por normalização de área.

Com folhas de cajazeira Brito, (2010) encontrou na composição dos óleos essenciais os compostos B-cariofileno (1,47%), acetato de etila (0,70%) e uma série de hidrocarbonetos como Octadecano (42,24%), tetracosano (8,62%), heptacosano (21,98%). Para o OE as folhas da cajarana os quatro compostos encontrados em maior abundância foram o Octadecano (31,50%), Indeno (22,53%), Ácido palmítico (8,22%) e o fitol (6,33%).

Existem poucos trabalhos publicados em relação a composição de óleos essenciais de *Spondias* no que se refere as suas cascas e folhas, porém em relação a polpa alguns autores como Ceva-Antunes, *et al* (2003) encontrou como compostos majoritários para a polpa de ciriguela o hexanal, o 2-*trans*-hexanal, o 3-hexenol, 2-hexenol, acetato de etila e acetato de hexila. Esses compostos não foram verificados na casca de cajá –umbu quando usamos o método de extração com solvente 1,4-dioxano.

Outro ponto a ser ressaltado é a presença, com uma área significativa (20,940 %), de um composto com espectro semelhante a do 5-Hidroximetilfurfural (HMF). Tal fato pode ter acontecido devido a interação do 1,4-Dioxano com os carboidratos presentes na casca conforme propôs Zhao *et al*, (2007) ao estudar que a utilização de certos solventes em determinadas temperaturas causam a degradação dos carboidratos ocasionando a formação de HMF.

Foram encontrados para o umbu um total de 66 compostos, como pode ser visto na Tabela 4, com destaque para o Limoneno, composto este que representou mais de 98% do total extraído predominando. A presença do limoneo em elevados teores (superior a 85%) já foi relatado na literatura para plantas da família Anacardiaceae, especificamente o gênero Shinus. (MONTANRI, 2010)

Para o óleo volátil de umbu obtido na extração com solvente 1,4-dioxano, o componente majoritário foi o limoneno, no entanto, outros componentes importantes como b-pineno, cariofileno, nootketona também foram identificados embora em concentrações inferiores a 0,1 % do total da composição. O limoneno é um

monoterpeno carateristico dos óleos essenciais de laranja e limão, apresenta boa estabilidade térmica a temperaturas inferiores a 100 º C, no entanto quando oxidado forma carveol e carvona. È um importante constituinte de aromas para uso alimentício e também na indústria de solventes biodegradáveis.(HANDBOOK OF ESSENTIAL OILS, 2010.) Sua presença confere a fruta uma maior proteção já que este composto possui ação antioxidante e ação fungicida como mostrado por Singh *et al*, (2010).

O umbu mostrou uma quantidade e variedade de compostos semelhantes aos encontrados no cajá-umbu. Galvão *et al*, (2010) encontrou pela técnica de extração Lickens-Nickelson com solvente, como principais compostos para a polpa de umbu madura o limoneno, cariofileno, vários alcoóis como 2-nonanol, 1-octanol, 2-hexanol e cetonas como 3-pentanona e 3-hexanona.

Lemos *et al,* (1995) em seu trabalho com óleos essenciais de *Spondias* encontrou para o OE das folhas da umbuzeira como compostos majoritários o β-cariofileno (50,01%), α-copaeno (13,25%) e δ-cadineno (10,05%). Esses compostos também foram encontrados na casca de umbu em concentrações inferiores a 1% do total do OE.

Comparando a composição das frutas umbu e cajá-umbu foi observada a contribuição dos constituintes do óleo essencial de umbu para a composição do óleo essencial de cajá umbu, um híbrido de umbu e cajá. Apenas 19 compostos identificados no OE de cajá-umbu não são encontrados no OE de umbu. No entanto, 33 compostos identificados estão presentes no OE de umbu e não em cajá-umbu. A literatura não traz relatos de composição de OE de casca para cajá e esse não foi avaliado no presente estudo.

5.2.5 Extração por via enzimática

Com base no trabalho de Santos (2008) que empregou enzimas isoladas de *Trichoderma Reesei* e *Aspergilus Niger* para aumentar a produção de óleos essenciais da *Mentha spicata L. (Lamiaceae)* conseguindo um incremento de até 60% na obtenção desses óleos, foi testada no presente trabalho extração enzimática. A enzima pectinase foi utilizada com a finalidade de clivar a pectina contida na casca das frutas, liberando assim o óleo essencial retido nos interstícios, levando a um aumento no rendimento desses e viabilizando até um possível microencapsulamento.

O procedimento foi realizado conforme metodologia anteriormente citada no item 4.4.3, onde inicialmente foram preparados dois extratos com 50g de pó das cascas em 300 mL de solução tampão de acetato de sódio (pH 4,0), sendo um extrato controle (sem adição de enzima) e outro com adição da pectinase (Poligalacturonase endo). Os extratos foram mantidos sob agitação constante durante 12hs a uma velocidade de 150 rpm, em shaker. Ao final desse período foi perceptível a turbidez no extrato controle enquanto o extrato enzimático se apresentava límpido sem nenhum traço de turbidez. Em seguida os extratos foram filtrados em gaze para coleta da fração líquida de interesse. Durante a filtração o extrato enzimático foi facilmente filtrado se comparado ao controle que foi de difícil filtração, o que se comprova observando a diferença de rendimento. O volume coletado de extrato foi de 128 mL para o extrato enzimático e 86 mL para o controle. Ambas as frações coletadas foram submetidas a extração liquido-liquido (ELL) com éter de petróleo. A ELL rendeu duas fases, uma aquosa e outra orgânica. Nessa etapa a fração de interesse por conter o OE foi a fase orgânica. O rendimento desta fase foi respectivamente 96 mL para o extrato enzimático e 87 mL para o extrato controle.

As fases aquosas foram armazenadas em freezer a -18°C, enquanto que as fases orgânicas de ambos os extratos foram concentradas por rotaevaporação a uma temperatura de 40°C. O concentrado líquido obtido apresentou aparência oleosa para ambos os extratos, sendo mais intenso para o extrato enzimático como apresentado na Figura 23. A fração lipídica foi recolhida do balão com micropipeta e em seguida diluída em 2 ml de hexano P.A. acrescida de Na_2SO_4 anidro e saturado por N_2 para preservação dos compostos.

Figura 21 – Fração lipídica obtida ao fim da extração enzimática

O rendimento da extração enzimática foi de 0,0198 g para o cajá-umbu aumentando em 4,5 vezes o rendimento do OE se comparado ao controle (0,0044 g). Para o umbu uma fração de 0,0127 g de OE obtido enzimaticamente foi coletado e representou um aumento de 1,9 vezes em relação ao controle (0,0065g). O teor de óleo essencial para o cajá-umbu, determinado pelo método enzimático, foi de 1,9852 % e para o umbu foi de 1,2756%. Já os teores de OE dos controles foram respectivamente 0,4400 % e 0,6540 % para cajá-umbu e para umbu. Desta forma foi possível observar a eficiência do método de extração enzimático, em termos de rendimento de óleo essencial. No entanto vale ressaltar que a extração propriamente dita foi realizada pela ação do solvente, que neste caso foi uma solução tampão acetato a pH 4,0, indicando que o meio ácido corroborou positivamente para a recuperação dos componentes do OE de ambas as frutas. Os extratos obtidos apresentaram forte aroma das frutas pesquisadas mas, no entanto, não puderam ser analisados devido a problemas técnicos no CG/EM.

O teor de pectina para as cascas foi determinado conforme metodologia descrita por Ranganna (1979) e os valores encontrados foram de 0,477% para cajá-umbu e 0,542% para umbu, valores encontrados próximos ao da literatura para estas frutas como reportado por Macedo *et al*, (2009) que encontrou para cajá-umbu e umbu teores de pectina respectivamente de 0,5165% e 0,5775%. Apesar de possuir um valor mais alto de pectina, o umbu foi o de menor rendimento de óleo por meio da ação enzimática. Provavelmente o uso da relação de massa de enzima e massa de casca não seja a forma ideal de se determinar a quantidade de enzima a ser utilizada e sim o teor de pectina presente na amostra. Nesse estudo não foi avaliada a influencia do teor de pectina sobre o rendimento da extração ou sobre a quantidade de enzima a ser empregada. Sugere-se realizar essa avaliação em trabalhos futuros.

6. CONCLUSÃO

Os parâmetros de secagem ideais obtidos para as *Spondias* em estudo de curva de secagem foram 30°C durante 30 horas.

A condição de inserção de amostra de óleo essencial na coluna cromatográfica que levou a resultados representativos foi o uso do injetor no modo split (1:1) e volume de injeção de 1 μL.

A extração utilizando aparelho de Clevenger para hidrodestilação levou a degradação dos óleos essenciais das *Spondias* estudadas verificado pelo forte aroma de "cozido".

Entre as técnicas de extração testadas, alternativamente, foi à extração com solvente orgânico 1,4 dioxano a única a apresentar eficiência de recuperação para os óleos essenciais de *Spondias.*

O uso da extração enzimática para obtenção dos óleos essenciais de cajá-umbu e umbu elevou o rendimento dos referidos óleos até 4 vezes para o cajá-umbu e 2 vezes para o umbu.

Na identificação da composição química do óleo essencial obtido com 1,4 dioxano foram identificados 55 compostos sendo os de maior concentração cariofileno, α-muuroleno e nootkateno.

Para o umbu, na mesma técnica de extração, o componente majoritário foi o limoneno representando 98% do total de compostos extraídos.

.

Capítulo II

MICROENCAPSULAMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

RESUMO

Óleos essenciais (OE) são matérias-primas para indústrias de aromas e podem ser microencapsulados por diversas técnicas. Assim, objetivou-se encapsular OE obtido a partir de cascas de laranja. Essas microcápsulas contendo óleo de laranja foram obtidas utilizando microencapsulamento por cocristalização e liofilização de OE de laranja na concentração fixa de 0,100 g de óleo/g de matriz encapsulante. A cocristalização apresentou aroma intenso de laranja e 6,3% de óleo de superfície, atividade de água 0,8330. A liofilização, com razão 60:40 de sacarose /gelatina rendeu 5,5% em óleo de superfície e Aw de 0,5249 com aroma leve de laranja, sendo esta a melhor condição de microencapsulamento, pois assim há uma maior preservação dos compostos terpênicos presentes no óleo essencial da laranja como por exemplo o Limoneno.

Palavras-chave: microencapsulamento, laranja, terpenos.

ABSTRACT

Essential oils (EO) are raw material for flavoring industry and can be microencapsulated through various techniques. Thus, it has been established as objective to encapsulate EO acquired from orange peels. These microcapsules which contain orange oil were obtained using microencapsulation by lyophilization and cocrystallization of orange EO in fixed concentration of 0.100g oil/g of the encapsulating matrix. Co-crystallization had intense aroma of orange oil and 6.3% of surface oil, and 0,8330 activity of water. Lyophilization, 60:40 ratio with the sucrose / gelatin yielded 5.5% oil surface and 0,5249 of Aw with light orange flavor, which means it is the best condition for microencapsulation, so this way there is a major conservation of terpene compounds presented in orange essential oil such as limonene.

Keywords: microencapsulation; orange; terpenes

1. Introdução

A microencapsulação é um processo de empacotamento de partículas (ex:compostos de sabor, pigmentos, acidulantes, nutrientes, enzimas, conservantes) em cápsulas comestíveis. O material encapsulado é denominado de recheio ou núcleo, e o material que forma a cápsula encapsulante, cobertura ou parede (GIBBS, 1999).

Microencapsulação trata-se de uma tecnologia inovadora que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Varias técnicas têm sido empregadas na elaboração de microcápsulas, tais como: *spray drying*, spray *cooling*, coacervação, extrusão, extrusão centrífuga, recobrimento em leito fluidizado, lipossomas e complexação por inclusão. Essa técnica procura solucionar limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar flavors indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade e aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (FAVARO-TRINDADE, 2008).

O microencapsulamento de óleo essencial na indústria de alimentos é uma das formas de utilização deste método. Como já é de conhecimento, na indústria de alimentos, os OE são utilizados para aromatizar produtos. No entanto uma das grandes dificuldades em relação a este ingrediente é a sua preservação durante o tempo de estocagem, pois o óleo é altamente sensível ao calor e a oxidação, além de ser volátil. Seu uso pode ser limitado a algumas aplicações devido às condições encontradas no meio, pois estes óleos podem reagir com outros componentes da formulação alterando suas propriedades (GARGANO, 2007).

Entre as várias maneiras de preservar as propriedades dos óleos esta técnica tem como objetivo reter o OE no interior de diversas matrizes poliméricas, sólidos ou líquidos preservando assim suas propriedades organolépticas (WATTS et al, 1990).

Partindo desta premissa buscou-se conhecer e aplicar técnicas de microencapsulamento a um óleo essencial conhecido, com a finalidade de aprimorar o processo para a sua aplicação em outros óleos onde esta técnica ainda não foi aplicada.

1. Objetivo Geral

Microencapsular óleos essencial de laranja pela técnica de co-cristalização e liofilização.

2.1 Objetivos Específicos

- ✓ Entender o processo de microencapsulação;
- ✓ Treinar as análises físico-químicas e químicas de produtos microencapsulados;
- ✓ Avaliar o comportamento de um produto microencapsulado;

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Encapsulamento

A perda de aromas durante o processamento ou armazenamento de alimentos ocorre freqüentemente na indústria alimentar. Dado que os aromas contribuem para as características desejáveis dos alimentos, necessitam de ser protegidos mediante tecnologias que permitam a sua retenção nos alimentos por um maior período de tempo (POTHAKAMURY e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995), como é o caso do encapsulamento.

A retenção do aroma numa matriz depende de vários fatores relacionados com a natureza química da substância a incorporar (em termos de peso molecular, reatividade química e volatilidade), propriedades da matriz e da metodologia de encapsulamento (MADRI *et al*, 2005).

Microencapsulação é o processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas. Trata-se de uma tecnologia inovadora que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Varias técnicas têm sido empregadas na elaboração de microcápsulas, tais como: spray drying, spray cooling, coacervação, extrusão, extrusão centrífuga, recobrimento em leito fluidizado, lipossomas e complexação por inclusão. Essa técnica tem solucionado limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar flavors indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade e

aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos (ASTIOLI FILHO, 2005).

Como misturas delicadas que são os compostos voláteis constituintes dos aromas não devem ser submetidos a processamento drásticos, particularmente durante o processamento térmico dos alimentos (Tuley, 1996). Assim o microencapsulamento assume uma extrema importância na estabilização de compostos aromáticos, permitindo um controle mais eficaz na libertação dos mesmos.

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas ou aplicadas para a produção de microcápsulas, podendo ser classificadas como métodos físicos, químicos ou físico-químico conforme apresentado na Figura 1. O tipo de processo utilizado depende grandemente das propriedades do agente encapsulante, bem como das limitações do material ativo (KING, 1995).

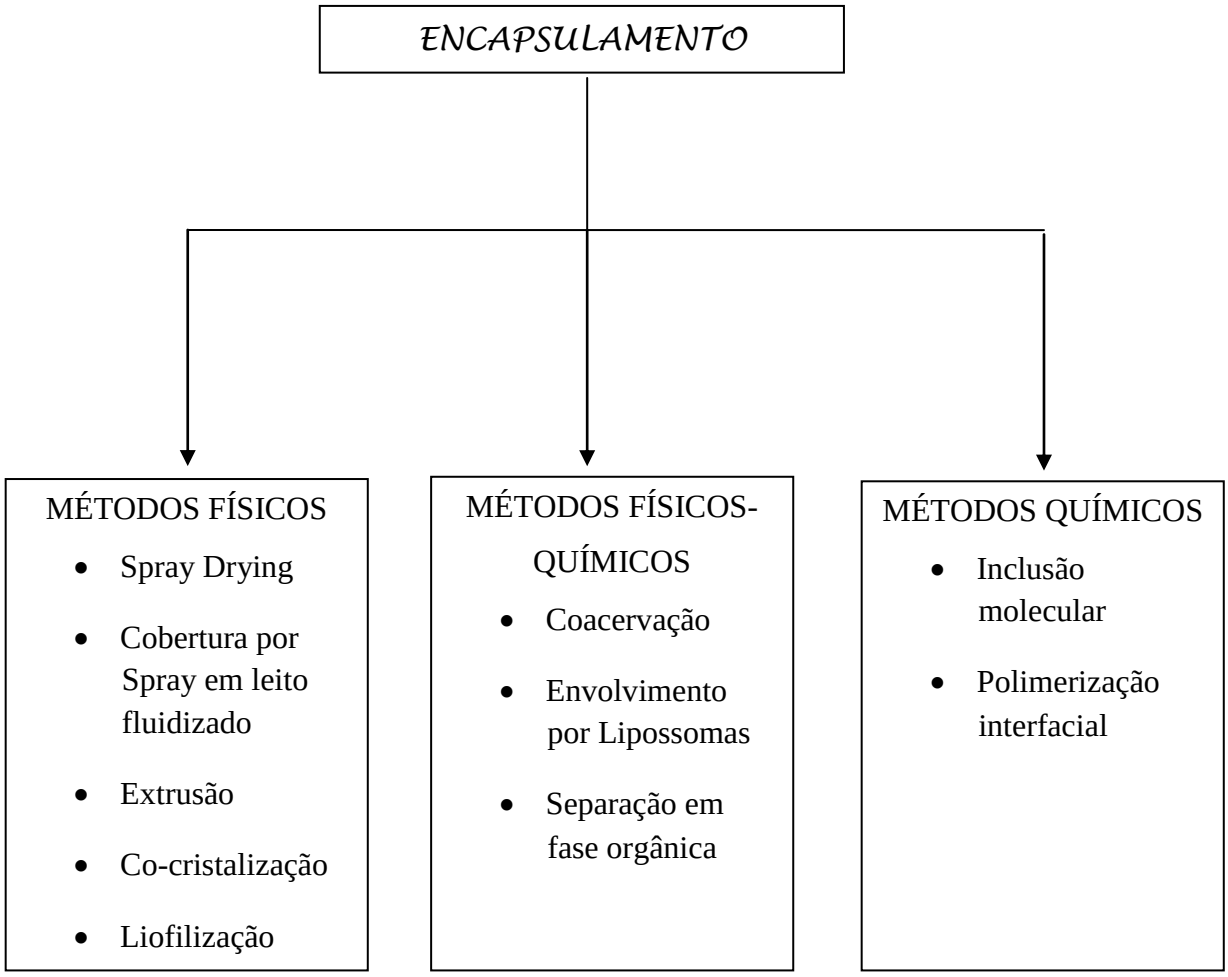


Figura 22 – Métodos de microencapsulação

Os materiais de revestimento são selecionados de acordo com o composto que se pretende encapsular e podem ser amidos, proteínas, lipídios. Segundo Brazel, 1999 citado por Ribeiro (2007), os mais utilizados em indústria alimentar são os polissacarídeos, as proteínas e os lipídios.

Entre as várias estratégias empregadas para prolongar a estabilidade dos OE, destaca-se a microencapsulação. Esta estratégia tem por objetivo encapsular sólidos ou líquidos dentro de matrizes ou sistemas reservatórios poliméricos (WATTS *et al*., 1990).

A microencapsulação de OE envolve as seguintes etapas: escolha de material de parede adequado ao OE a encapsular, preparo da emulsão, constituída pela solução do material de parede e do óleo e homogeneização da emulsão. Finalmente, a secagem da emulsão por atomização em secador formará glóbulos os quais podem conter bolhas internas e superfícies lisas ou rugosas. (ALEXANDER & KING 1985, SHAHIDI & HAN 1993).

Em geral, os OE na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação, o que dificulta a sua conservação, fazendo com que o seu processo de armazenamento seja fundamental para a manutenção de sua qualidade (SIMÕES, 2004).

Tradicionalmente a goma arábica tem sido utilizada em microencapsulação porque apresenta baixa viscosidade em solução aquosa, favorece a estabilidade das emulsões, tem boa retenção de compostos voláteis (acima de 85%) e confere proteção efetiva contra a oxidação conforme afirmam Reineccius (1991), Rosenberg *et al* (1990) e Bhandari *et al* (1992).

A maltodextrina é usada porque, além do baixo custo, apresenta baixa higroscopicidade, evitando a aglomeração das partículas; tem efeito antioxidante e mostra retenção de voláteis na faixa de 65 a 80%, segundo (KENYON & ANDERSON, 1988, REINECCIUS, 1991 e SHAHIDI & HAN, 1988). O amido modificado é outro agente encapsulante muito usado pela excelente retenção de voláteis (acima de 93%), pela estabilização da emulsão e baixa viscosidade.

Gonsalves *et al* (2009) encapsulou OE de *Citrus sinensis (L) Osbeck* pelo método de coacervação simples utilizando quitosana devido a baixa estabilidade desse óleo. O encapsulado deste óleo mostrou uma redução na oxidação de 31,16%.

Segundo Mourtzinos *et al* (2009) o uso de β-ciclodextrina para retenção de monoterpenos utilizando a técnica de spray-drying revelou que estes compostos foram protegidos da oxidação quando encapsulados enquanto que os monoterpenos não encapsulados foram facilmente oxidados.

Beristain *et al*. (1996) encapsularam óleo de casca de laranja por co-cristalização com sacarose e conduziram testes de armazenagem com o produto resultante. Apesar de boa fluidez, o produto exigiu a adição de um antioxidante, provavelmente devido à presença de grande quantidade de óleo superficial resultante da tentativa de incorporar grandes proporções de material ativo em relação ao agente encapsulante.

3.2.1. Métodos Físicos de Encapsulamento

3.2.1.1. Spray-Drying

Este método tem sido utilizado durante décadas no microencapsulamento de ingredientes alimentares como, aromas, lipídios e compostos corados. Durante o processo de secagem, a evaporação do solvente, que é na sua maior parte água, é muito rápido e o aprisionamento do composto em questão é quase instantâneo (CARVALHO, 2009).

A atomização, sendo um processo de secagem, é utilizada como técnica de microencapsulamento pelo aprisionamento do material ativo numa matriz. O processo é geralmente dividido em três etapas: preparação de uma dispersão, homogeneização e a atomização em câmara de secagem.

O objetivo da atomização é o de criar a maior superfície de transferência de calor entre o ar quente e o líquido de forma a aperfeiçoar a transferência de calor e massa. Quanto maior a energia fornecida, menor a dimensão das partículas. Para a mesma quantidade de energia, o tamanho aumenta com o aumento do caudal de

alimentação. No entanto, o tamanho das partículas aumenta quando tanto a viscosidade como a tensão superficial do líquido são elevadas.

3.2.1.2. Liofilização

A liofilização é um processo que consiste na aplicação de duas operações unitárias, o congelamento e a secagem (liofilização propriamente dita) a uma pressão reduzida. É utilizado para preservar produtos, para torná-los mais práticos no que respeita ao seu transporte e manipulação, dada a redução de massa conseguida pela perda de água e pulverização de materiais. É um procedimento de secagem cujo princípio é a sublimação do gelo de um produto congelado, portanto a água do produto passa diretamente do estado sólido ao estado de vapor.

Segundo Kaushik e Ross (2006), o processo de liofilização forma uma matriz contínua em redor da molécula a encapsular. Estes autores referem ainda que a matriz obtida através deste processo caracterize a proteção superior em relação a outros sistemas nos quais só existe uma camada de matriz que envolve a substância encapsulada. Contudo, a retenção por liofilização pode ser afetada por maiores vácuos promovendo a volatilização dos voláteis se estes não estiverem revestidos de modo apropriado no interior da matriz.

3.2.1.3. Leite Fluidizado

O microencapsulamento em leito fluidizado processa-se suspendendo partículas sólidas do material ativo numa corrente de ar quente ascendente. O agente encapsulante, fundido ou dissolvido num solvente vaporizável, é atomizado a partir do topo da câmara através de orifícios, depositando-se em fina camada na superfície das partículas do material a encapsular em suspensão. A turbulência da coluna de ar é tal que as partículas se elevam nas proximidades do centro da coluna, ao atingirem o topo afastam-se no sentido exterior e caiem. Estes ciclos repetem-se várias vezes por minuto permitindo que as partículas sejam uniformemente revestidas. Os materiais encapsulantes são geralmente selecionados de entre os derivados de celulose, dextrinas, emulsionantes, lipídios, derivados protéicos e derivados de amido (RIBEIRO, 2007).

3.2.1.4. Extrusão

A extrusão é um processo que tem sido utilizado industrialmente para converter aromas sob a forma líquida, principalmente OE, em sólidos. Envolve a passagem sob pressão de um material ativo disperso numa massa de glúcidos fundida através de uma série de fieiras para o interior de um banho de líquido desidratante. Ao contactar com o líquido, o material de revestimento que forma a matriz de microencapsulamento solidifica e aprisiona o material ativo. Os filamentos extrudidos são separados do líquido, secos e calibrados. Um exemplo deste processo consiste na extrusão de óleo de citrinos disperso em glóbulos microscópicos com um emulsionante adequado numa matriz fundida de sólidos de xarope de amido e glicerina (CROCKER E PRITCHEDT, 1978).

3.2.1.5. Co-cristalização

A co-cristalização com sacarose é um método que permite incorporar vários tipos de ingredientes alimentícios, simples ou combinados, no aglomerado cristalino de sacarose, mantendo suas características nutricionais e aplicações. O processo envolve uma cristalização espontânea, a qual produz agregados de tamanho micro de cristais de 3 a 30 mm, incorporando todos os materiais, dentro ou entre os cristais de sacarose (SHAHIDI e HAN, 1993).

Neste processo, a estrutura cristalina da sacarose é modificada, passando de um cristal perfeito para um aglomerado de micro-cristais. Tais aglomerados apresentam uma configuração porosa, com inúmeros espaços vazios e interstícios, permitindo a adição de um segundo ingrediente, o qual fica recoberto pela sacarose (AWAD E CHEN, 1993; BERISTAIN *et al*., 1994). Esse produto granular apresenta baixa higroscopicidade e boas propriedades de fluidez e dispersão. Além disso, quando compostos sensíveis são aprisionados no interior dos aglomerados, os mesmos ficam protegidos contra a oxidação (BHANDARI *et.al*., 1998).

A cristalização espontânea de um xarope de sacarose supersaturada é alcançada em alta temperatura (acima de 120 C e 95-97º Brix), assim sendo compostos de baixa umidade e aroma podem ser adicionados no momento da cristalização espontânea (BHANDARI *et al*., 1998). A estrutura do cristal de sacarose pode ser modificado para formar agregados de cristais muito pequenos que

incorporam os sabores: ou pela inclusão dentro dos cristais ou por aprisionamento. Isso serve para aumentar a estabilidade do sabor (CHEN *et al*, 1988). O produto granular tem uma baixa higroscopicidade, fluidez e propriedades de dispersão (QUELLET *et al*, 2001). Entretanto durante o processo, o sabor após ter sido transformado em grânulos pode ter alguns compostos sensíveis ao calor degradados (BHANDARI *et al*., 1998).

Comparado com outros processos de microencapsulamento a co-cristalização oferece uma alternativa econômica e flexível já que é um procedimento é relativamente simples (JACKSON & LEE, 1991; CHEN, 1994). Um pequeno número de estudos foram publicados sobre o uso da co-cristalização como processo de microencapsulamento (CHEN *et al*,1988; BERISTAIN *et al*,1994, 1996). Chen *et al*.(1988), descreveu inúmeros produtos que podem ser encapsulados pelo processo da co-cristalização. Estes produtos incluiam sucos de frutas, OE, aromas, açúcar mascavo, etc.

De acordo com Beristain *et al*. (1994, 1996), a co-cristalização só pode ser conduzida satisfatoriamente na região onde o grau de supersaturação é superior a 1,25 (zona lábil). Nessa região, a taxa de formação de cristais é tão alta que os núcleos formam-se espontaneamente e sem nenhum controle. A nucleação espontânea ocorre quando o tempo insuficiente para orientação das moléculas até o retículo cristalino resulta na formação de um sólido aglomerado.

Chen (1994) testou experimentalmente ingredientes co-cristalizados utilizando a sacarose como agente encapsulante com o objetivo de melhorar a funcionalidade do produto, como dispersão, solubilidade, emulsificação e estabilidade. A capacidade de dispersão foi avaliada empregando goma xantana como material encapsulado. A goma xantana co-cristalizada dispersou-se instantaneamente em solução aquosa, sem a formação de grumos, e foi rapidamente hidratada, enquanto que a mistura física de sacarose com goma xantana sofreu hidratação de 50% a 75% somente após 30 minutos. A solubilidade foi estudada a partir de ácido fumárico co-cristalizado com sacarose (20% ácido e 80% sacarose). A amostra dissolveu-se quase completamente em vinte segundos em água fria a 20 ºC. Por outro lado, tratando-se da mistura física de ácido e sacarose em água, só 56,4% foram dissolvidos após 60 segundos. O aumento da

capacidade de emulsificação foi avaliado com lecitina co-cristalizada (10% lecitina e 90% sacarose). A tensão superficial da emulsão óleo/água (50/50) foi reduzida em 38%, comparada com a mistura seca de sacarose e lecitina. Os micro-poros da estrutura aglomerada permitiram a dispersão em água/óleo ou a emulsão óleo/água. A propriedade de estabilidade do produto co-cristalizado foi investigada a partir de testes de oxidação. A determinação do índice de peróxido foi conduzida com a utilização de pasta de amendoim co-cristalizada e com a mistura seca de sacarose com a mesma pasta, apresentando 40% de amendoim. Os dois produtos foram estocados a 38°C e com residual de peróxido de 1,21 (meq peróxido/kg) pelo período de oito semanas. Os índices de peróxido da mistura seca foram superiores aos do produto co-cristalizado. Após oito dias de estocagem o residual de peróxido na mistura seca foi de 29,01 meq/kg e do produto co-cristalizado de 3,33 meq/kg. Quanto menor o residual de peróxido, menor será o grau de oxidação ou ranço da pasta de amendoim.

Bhandari e Hartel (2002) estudaram a influência da glicose e frutose na cristalização da sacarose, uma vez que estas substâncias interferem diretamente nesse processo. Muitos ingredientes como o mel e sucos de fruta contêm glicose, frutose ou ambos e a qualidade do produto e os parâmetros de processo são governados pelo comportamento da cristalização da sacarose. Os níveis de adição de glicose, frutose e a mistura de ambas na solução de sacarose foram de 0,5,10, 15 e 20% (base seca). A proporção de mistura de glicose e frutose foi de 31:38 (glicose:frutose), quantidade aproximada à presente no mel. A cristalização da sacarose pura ocorreu muito rapidamente (2 minutos), com evaporação da umidade durante a cristalização. Nas amostras que continham glicose e frutose foi necessário estender o resfriamento para iniciar a co-cristalização, devido ao efeito de inibição desses açúcares.

Uma das matrizes encapsulantes mais utilizadas na Co-cristalização é a sacarose que nada mais é do que um dissacarídeo utilizado para encapsular aromas e óleos. Individualmente não apresenta resultados interessantes. No entanto, quando combinada com a goma-arábica e com a gelatina apresenta bons resultados dependendo das condições de operação, nomeadamente da quantidade utilizada. Segundo Pegg e Shahidi (1999) tem boa solubilidade em água, não é higroscópica e tem baixo custo.

Apresenta elevado tempo de vida à temperatura ambiente e forma cristais em condições de desidratação (KAUSHIK E ROSS, 2006).

A mistura de sacarose e maltodextrina é freqüentemente utilizada como agente encapsulante em processos de microencapsulamento por extrusão (Pegg e Shahidi, 1999). A sacarose é utilizada no microencapsulamento de aromas alimentares por co-cristalização, contudo a sua estrutura química cristalina tem de ser modificada para uma microestrutura irregular formando aglomerados antes da ocorrência da co-cristalização (PEGG E SHAHIDI, 1999). Esta estrutura modificada é caracterizada por ter um espaço vazio considerável e elevada superfície específica que contribuem para a incorporação de compostos ativos.

De acordo com Flink (1983), o estado cristalino envolve uma matriz tridimensional ordenada de moléculas, na qual existe periodicidade e simetria. Todas as moléculas são equivalentes com respeito à sua energia de ligação, o que faz com que a mudança do estado cristalino ocorra em uma temperatura fixa. No estado não-cristalino (amorfo ou vítreo) também ocorre a formação de uma rede tridimensional que, no entanto, não se apresenta periódica ou simétrica. Dessa forma, nem todas as moléculas encontram-se igualmente ligadas à rede e a mudança de estado ocorre em uma faixa de temperatura. O estado cristalino corresponde à forma estável do material, isto é, aquele que se desenvolve em condições de equilíbrio. Os materiais não cristalinos são instáveis, sendo formados em condições de não-equilíbrio. Dada a oportunidade, ocorrerá a transição para a forma cristalina, estável.

A cristalização a partir de soluções envolve três etapas fundamentais e sucessivas entre si, se referenciadas a uma única partícula formada, porém simultâneas, se considerado todo o sistema formado por tal evolução. Tais etapas são: (1) o estabelecimento da força motriz, (2) a formação do núcleo ou nucleação (centro) do cristal, e (3) o crescimento do cristal (ASTIOLI FILHO, 2009).

A primeira etapa do processo de cristalização é a geração de um potencial suficiente para que a mesma ocorra, o que está associado à estrutura da solução e ao desenvolvimento da supersaturação. Quando uma solução contém a quantidade total de sólido que é capaz de dissolver, diz-se que está “saturada”. A saturação é um estado de equilíbrio termodinâmico estável entre as fases sólido e líquido .

Para a segunda etapa que é a formação dos cristais, os mesmos, são gerados a partir da união das moléculas a fim de se formar a rede cristalina. A nucleação define o tamanho das partículas interferindo assim diretamente nas propriedades físicas do encapsulado. A nucleação dos cristais pode ocorrer de duas maneiras: primária, que é caracterizada pela formação de cristais sem a presença de cristais anteriores, normalmente em soluções puras e supersaturadas. Já a nucleação secundária se dá em uma solução que já contem micro-cristais que facilitam a formação de outros cristais (ASTIOLI FILHO, 2009).

3.2.2. Métodos Fisíco-Químicos

3.2.2.1. Coacervação

A coacervação é um fenômeno coloidal. Partindo-se de uma solução de um colóide num solvente apropriado, de acordo com a natureza do colóide, várias alterações podem originar uma redução da solubilidade do colóide. Como resultado desta redução, uma grande parte do colóide pode ser separada numa nova fase. Assim, o sistema inicial de apenas uma fase torna-se um sistema de duas fases: uma com baixa concentração de colóide e outra com elevada concentração de colóide. A fase rica em colóide fica num estado disperso e aparece como gotículas amorfas a que se dá o nome de coacervado. Em repouso, estas gotículas coalescem formando uma camada de líquido clarificada e homogênea rica em colóide, conhecida como camada de coacervado (CARVALHO, 2009).

A coacervação pode ser induzida por vários processos: alteração de temperatura, de pH ou adição de uma segunda substância como por exemplo solução concentrada de um sal ionizado (MAGDASSI e VINETSKY, 1996).

A coacervação é por vezes classificada como separação em fase aquosa ou microencapsulaçã “óleo-em-água” e separação em fase orgânica ou microencapsulação “água-em-óleo”. No primeiro caso, o material ativo é o óleo e deve ser imiscível na fase contínua, por exemplo, água. No segundo caso, um material ativo polar é disperso numa fase contínua constituída por óleo ou num solvente não polar (ASTIOLI FILHO, 2009).

3.2.2.2. Lipossomas

Os lipossomas são vesículas de camada única ou múltipla constituídas por membranas de fosfolipídios envolvendo totalmente uma fase aquosa contida no seu interior. Estas vesículas formam-se espontaneamente quando os fosfolipídios são dispersos em meio aquoso. Uma porção do meio aquoso fica encerrada na membrana lipídica que então funciona como um meio de libertação controlada do material ativo disperso na fase aquosa ou lipídica (MARGALIT e YERUSHALMI, 1996).

3.2.3. Métodos Químicos

3.2.3.1. Complexação por Inclusão

O mecanismo de complexação por inclusão utiliza geralmente como matriz ciclodextrinas. As moléculas de ciclodextrinas aparentam a forma de um cone oco truncado. Átomos de hidrogênio e os átomos glicosídicos de oxigênio dos monômeros de glicose estão localizados na cavidade do anel da ciclodextrina. Estes grupos dão à cavidade caráter hidrofóbico e interagem com várias moléculas orgânicas ou com partes destas formando complexos. Os grupos hidroxilas dos monômeros de glicose estão localizados nas extremidades da molécula. Estes grupos interagem com a água conferindo às ciclodextrinas as suas propriedades de solubilidade em água e com os grupos polares de algumas moléculas para formar ligações de hidrogênio. O complexo ciclodextrina/molécula forma-se por ligações covalentes podendo ser muito estáveis. A libertação do material ativo ocorre quando há condições para o equilíbrio se deslocar no sentido da direita para a esquerda e freqüentemente utilizado pela indústria alimentar com o fim de microencapsulamento em nível molecular (CARVALHO, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima

Neste trabalho foram utilizadas cascas de laranja pera (*Citrus Sinensis*, Rutaceae) para obtenção do OE. As frutas foram compradas no CEASA da cidade de Aracaju-SE e levadas até o Laboratório de Análise de Alimentos, onde foram despolpadas e as cascas levadas para estufa com circulação de ar a 25ºC por 48h. Após secas as cascas foram trituradas em moinho (Marca IKA, modelo 1001) e o pó

resultante armazenado em recipiente de vidro protegido da luz e sob atmosfera de N_2 em freezer a -18ºC, para se evitar a oxidação dos OE presentes.

4.1.1 Matrizes encapsulantes

Foram utilizados como matrizes encapsulantes para a Co-cristalização: sacarose comercial adquirida em supermercado da cidade de Aracaju e refinada para o processo no próprio laboratório em liquidificador industrial. Enquanto que na liofilização a matriz de encapsulamento foi um blend entre gelatina comercial e sacarose comercial refinada.

4.2.1. Obtenção do OE

A extração do OE foi realizada por meio da técnica de Hidrodestilação com aparelho de Clevenger modificado, onde 60g de casca, devidamente seca e triturada, juntamente com 450 ml de água destilada foram colocados em um balão de 1L e aquecidos em manta de aquecimento até a 100°C e contadas três horas a partir do decaimento da primeira gota até o fim da extração (BERISTAIN, 1996).

4.2.2. Microencapsulamento

4.2.2.1 Cocristalização

O microencapsulamento por co-cristalização foi realizado de acordo com metodologia descrita por Astioli Filho (2009), onde uma quantidade inicial de xarope de sacarose de 200g, com concentração inicial de 70º Brix, foi aquecido em chapa aquecedora (marca GO, modelo 752 A, com agitação, faixa de temperatura de 0 à 350ºC e potência 650 W), em um recipiente aberto com capacidade para um litro, até que a temperatura atingisse 128ºC. Nesse momento, a amostra foi retirada do aquecimento e foi dado início à agitação constante em agitador mecânico. De modo praticamente simultâneo, era feita a adição em diferentes proporções adequadas de OE, mantendo a agitação constante.

4.2.2.2 Liofilização

A liofilização foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Carvalho, (2009) onde primeiramente foram produzidas 100 ml de soluções, com diferentes concentrações e teores de componentes do blend como apresentado na Tabela 5. Em seguida, 10g de matriz formada de gelatina e sacarose (em cinco diferentes proporções) foi adicionada de água destilada até que atingisse concentração de 7,5° Brix, a cada uma dessas soluções foi adicionado 1 mL de OE de laranja e foram aquecidas em chapa aquecedora (marca GO, modelo 752 A, com agitação) por 30 minutos a 30°C. Posteriormente, as soluções foram guardadas em placas de Petri à temperatura de congelamento. Após congelamento, as soluções foram levadas ao liofilizador de marca Christ – modelo alpha 1-2 LP Plus por 24 horas.

Tabela 5 - Relações gelatina/sacarose no encapsulamento de OE de laranja por liofilização.

Tratamento	**01**	**02**	**03**	**04**	**05**
Gelatina (%)	60	50	40	70	30
Sacarose (%)	40	50	60	30	70

4.3 Análises físicas e físico-químicas do OE e do produto

Com o OE e o encapsulado obtido foram realizadas análises químicas, físicas e físico-químicas de pH, densidade, cor, identificação da composição química do OE e dos compostos em CG/EM, sendo todas as análises realizadas em triplicata**.**

4.3.1 Densidade do óleo

A densidade do OE foi determinada, pela aferição da massa do óleo com o volume que ele ocupa em uma proveta previamente tarada conforme metodologia descrita por Bhandari,(1998).

4.3.2 pH do óleo

O pH do óleo foi realizado recolhendo-se uma fração do óleo obtido, puro, sem sofrer nenhuma diluição para medição em pHmetro da marca StarLab calibrado a pH 4,0 e 7,0.

4.3.3 Densidade aparente do produto

A densidade aparente do encapsulado foi obtida conforme metodologia proposta por Beristain, (1996) onde aproximadamente 30g de encapsulado foram colocados em uma proveta graduada de 250 mL, onde foram aplicadas leves batidas na proveta contra a superfície, até que o volume em seu interior atingisse um valor constante o qual era utilizado no valor do cálculo da intensidade.

4.3.4 Solubilidade do produto

A solubilidade do encapsulado também, conforme metodologia apresentada por Beristain, (1996), medindo-se o tempo necessário para a completa dissolução de 10 g do produto em 100 ml de água destilada a 25ºC, contida em uma proveta graduada. A mistura era sempre agitada manualmente com um bastão de vidro e o tempo, medido em um cronômetro, correspondendo ao momento em que não mais eram observadas partículas sólidas.

4.3.5 pH do produto

Foi realizado colocando-se 5g de encapsulado em um becker, onde o mesmo era dissolvido em 50 ml de água deionizada e levados para aferição do pH em pHmetro (marca StarLab).

4.3.6 Sólidos solúveis do produto (°Brix)

O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando a mesma solução preparada pra medir o pH. Foi retirado alíquotas e colocadas no refratômetro de Abbé e feita a leitura.

4.3.7 Óleo de superfície do produto

A determinação do óleo retido na superfície das microcápsulas foi efetuada pela adição de 20 ml de hexano °HPLC com 95% de pureza, a 3-5 g de amostra, onde o microencapsulado sofria uma lavagem cuidadosa e em seguida era filtrado e seco em

estufa a uma temperatura de 105 °C/5h conforme metodologia encontrada em Bhandari *et al*., 1998.

4.3.8 Atividade de água do produto (Aw)

A determinação da atividade de água (AW) de cada amostra foi feita, utilizando o medidor de atividade de água, modelo ACQUA LAB – 4TEV da marca Decagon.

5. Resultados e Discussão

5.1 Obtenção do OE de laranja

O OE de laranja obtido através da técnica de hidrodestilação rendeu um líquido transparente, de aroma característico de laranja com pH próximo da neutralidade (6,7), elevada fluidez e menos denso (d= 0,8064 g/mL), sendo facilmente visulizado na coluna de destilação do extrator de Clevenger, sobre a coluna de água. O comportamento do OE de laranja foi muito diferente do que foi visto na tentativa de extração de OE de *Spondias* nesse mesmo extrator.

5.2 Óleo essencial encapsulado

5.2.1 OE de laranja co-cristalizado

O óleo essencial da laranja foi encapsulado seguindo metodologia descrita por Astioli Filho (2003), onde uma quantidade inicial de xarope de sacarose de 200g, com concentração inicial de aproximadamente 70º Brix, foi aquecido em chapa aquecedora até que a temperatura atingiu 128ºC. Nesse momento, a amostra foi retirada do aquecimento e deu-se início à agitação usando um agitador mecânico, até que a solução chegasse a 90°Brix. Em seguida, a solução foi retirada do aquecimento e 6,02 mL de OE de laranja foi adicionado seguido de agitação manual constante até todo o OE ser microencapsulado e passar para o estado sólido cristalino. Esse microencapsulado possuía cor branqueada com características semelhantes a grãos de açúcar cristal, com aroma tão intenso quanto o aroma do óleo essencial extraído. O microencapsulamento do OE foi realizado na concentração de 0,100 g de óleo/g sacarose e suas análises físicas foram calculadas em triplicata, conforme citado na Tabela 5.

Tabela 6 – Propriedades Físicas do OE encapsulado por co-cristalização

Concentração (g óleo/g sacarose	Densidade Aparente (g/cm$^{3)}$	Sólidos Solúveis (°Brix)	Tempo de solubilização (s)	pH	Aw	Óleo de Superfície (%)
0,100	0,42±0,03	9,3±0,5	92±5	5,6±0,1	0,83±0,002	6,3±0,14

De acordo com Astioli Filho (2003), a cristalização da sacarose é dificultada em pH muito ácidos mas como no experimento o OE não possuía um perfil de alta acidez (pH=6,7), a cristalização foi favorecida não havendo a necessidade de correção do pH. A densidade aparente do co-cristalizado com OE de laranja encontra-se na faixa correspondente à maioria dos pós alimentícios que vai de 0,30 a 0,80 g/cm³ segundo Peleg (1983). Beristain (1994) apresentou resultados de densidade aparente de OE de Jamaica encapsulado entre 0,40 e 0,60 g/cm³, valores semelhantes ao do co-cristalizado encapsulado.

Os tempos de solubilização apresentados na Tabela 5 encontram-se superiores aos relatados por Beristain *et al*. (1994). Quanto à solubilidade, Beristain (1994) obteve valores entre 28,3 e 35s para o OE de Jamaica encapsulado com sacarose por co-cristalização, considerados como excelentes no que diz respeito a propriedades de reconstituição dos encapsulados. Beristain (1994) obteve a solubilidade observando o tempo necessário para solubilizar 10 g de encapsulado em 100 mL de água destilada a uma temperatura de 25°C. Esse fato pode estar relacionado com os valores de concentração e pH diferentes para os tratamentos avaliados nesse estudo. Astioli Filho (2003) relata que a baixa solubilidade dos microencapsulados por co-cristalização estão diretamente relacionados com a concentração e pH elevados, resultados esses observados a partir de estudos utilizando o planejamento experimental como ferramenta avaliadora.

Segundo Beristain (1994), o valor da retenção de óleo de superfície indica que a quantidade de óleo de superfície retido possui grande relação com a vida de prateleira do produto, pois quanto maior o valor de óleo de superfície, maior a chance de ocorrer oxidação do microencapsulado. Assim sendo, quanto maior a concentração de OE adicionado no momento do encapsulamento, menor seria sua vida de prateleira, sendo

melhor o mais baixo valor de retenção de óleo de superfície possível. No presente trabalho a co-cristalização apresentou óleo de superfície na faixa de valores relatados na literatura.

5.2.2 OE de laranja com matriz gelatina/ sacarose por liofilização

O óleo essencial de laranja também foi encapsulado seguindo metodologia descrita por Carvalho (2009), onde uma quantidade total de 10g de matriz formada de gelatina e sacarose (em cinco diferentes proporções) foi adicionada de água destilada até que atingisse concentração de 7,5° Brix, aquecidas em chapa aquecedora por 30 minutos à 30°C e logo após guardadas a temperatura de congelamento e posteriormente levadas ao liofilizador por 48 horas. Passado esse tempo, é agregado á amostra 1 mL de OE e levado novamente ao liofilizador por mais 48 horas. Esse teste foi feito para encapsulamento de OE de laranja, porém o resultado não foi o esperado. Formou-se uma placa opaca e amarelada com aroma de laranja que, ao ser moída perdeu parte do aroma tornando inválido o experimento.

Sendo assim, a metodologia foi modificada e ao invés de se incorporar o OE de laranja após a liofilização, este foi incorporado (1 mL a cada solução) logo após a concentração se encontrar a 7,5° Brix, seguindo as posteriores etapas normalmente e levando a amostra ao liofilizador por 24 e não 48 horas. Essas modificações foram realizadas na tentativa de que se houvesse a menor perda possível de aroma e retenção de OE pela matriz. O encapsulamento do OE de laranja foi encapsulado em cinco tratamentos com relação ao percentual entre gelatina e sacarose conforme descrito na Tabela 5.

Com o término do tempo de liofilização (24 horas) obteve-se características físicas e sensoriais diferentes em cada um dos testes. A Tabela 7 explica a diferença em cada tratamento, quanto às propriedades físicas e físico-químicas. Além das características físicas e físico-químicas, existem também as características gerais, entre elas: cor, tamanho das partículas e aroma. Todas as amostras saíram da liofilização com características esponjosa e opaca, mas também obtiveram características diferentes em outros fatores.

Tabela 7 - Propriedades físicas do OE encapsulado por matriz de gelatina/sacarose e liofilizado, calculadas em triplicata para melhor significância.

Trat.	Concentração (g óleo/g sacarose	Densidade Aparente ($g/cm^{3)}$	Sólidos Solúveis (°Brix)	Tempo de solubilização (s)	pH	Aw	Óleo de Superfície (%)
1	0,100	0,16±0,04	9,4±0,2	49±2,2	5,3±0,2	0,49±0,001	11,1
2	0,100	0,09±0,08	7,2±0,2	35±1,4	5,2±0,3	0,44±0,002	11
3	0,100	0,12±0,01	11±0,4	38±1,6	5,4±0,3	0,52±0,002	5,5
4	0,100	0,13±0,03	9,2±0,7	44±1,7	5,3±0,6	0,19±0,003	13,2
5	0,100	0,12±0,03	7,0±0,2	27±2,2	5,6±0,1	0,25±0,003	4,1

O tratamento da amostra 1 obteve uma cor amarelada, partículas granulares e aroma de laranja característico. Já o tratamento 3 foi também esbranquiçado, porém com partículas razoavelmente finas e aroma suave. O tratamento 4 foi amarelado, partículas bem granulares e apenas traços de aroma de laranja. E, por fim, o tratamento 5 era branco, um pó fino e foi o tratamento mais parecido com o cocristalizado, porém se encontrava praticamente sem aroma. Sendo feitas as análises físico-químicas dos tratamentos, a etapa seguinte foi escolher qual tratamento foi mais eficiente. Para isso, não pode-se utilizar os valores calculados de densidade aparente, o tempo de solubilização, o pH e o teor de sólidos solúveis, pois para uma determinação eficiente usando esses dados seria necessária a utilização da microscopia eletrônica, cujo equipamento está indisponível no momento. Logo, os parâmetros decisivos para a escolha do tratamento mais eficaz foram:

- ✓ Óleo de superfície: quanto maior a porcentagem de óleo de superfície, maior a probabilidade de ocorrer oxidação;
- ✓ Atividade de água: quanto maior, maior a probabilidade de que se ocorra proliferação microbiana e degradação oxidativa.

Sendo assim, em relação a esse dois parâmetros o tratamento mais eficaz para o encapsulamento de OE de laranja por liofilização foi o tratamento 3, sendo sua matriz formada por 60% de sacarose e 40% de gelatina. Este possui 5,5% de óleo de superfície e atividade de água equivalente a 0,5249. Estes não foram os valores mais baixos dentre os cinco tratamentos e sim os valores do tratamento 5, porém este tratamento

praticamente não possui aroma característico da laranja. Sendo assim, o tratamento mais adequado foi o tratamento3, que apresentou um valor aceitável de óleo de superfície (5,5%) e atividade de água mediana (0, 5249), além de possuir o aroma característico da laranja, mostrando que o objetivo do trabalho foi alcançado.

5.2.3 Comparação entre os métodos

Sendo escolhido o melhor tratamento dentre os cinco, o próximo passo foi comparar os dois métodos: cocristalização e encapsulamento por liofilização. A Tabela 8 trás a comparação entre as análises físico-químicas dos dois métodos.

Tabela 8: Quadro comparativo entre o cocristalizado (1) e o encapsulado liofilizado (2) de melhor eficiência.

Teste	Concentração (g óleo/g sacarose	Densidade Aparente ($g/cm^{3)}$	Sólidos Solúveis (°Brix)	Tempo de solubilização (s)	pH	Aw	Óleo de Superfície (%)
1	0,100	0,42±0,03	9,3±0,5	92±5	5,6±0,1	0,83±0,002	6,3±0,14
2	0,100	0,12±0,01	11±0,4	38±1,6	5,4±0,3	0,52±0,002	5,5±0,14

Os parâmetros utilizados para escolha do tratamento, entre os 5 tratamentos do método de encapsulamento por liofilização, foram o óleo de superfície e atividade de água. Estes parâmetros foram também utilizados para escolha do método mais eficaz para encapsulamento de OE de laranja.

A atividade de água foi selecionada como parâmetro, pois quanto mais baixo os valores de atividade menores serão os riscos de contaminação microbiológica e de danos oxidativos no material encapsulado o que reflete diretamente na vida de prateleira do produto (Fennema, 2007). O mesmo ocorre com o óleo de superfície, sendo que valores baixos de óleo de superfície apontam para uma maior eficiência do encapsulado (desde que haja manutenção do aroma), além disso, minimiza-se o risco de desenvolvimento de processos de rancidez que alterariam o aroma característico do

produto por formação de *off flavor*. Ambos os parâmetros quando em valores baixos indicam maior vida útil do produto.

A diferença de óleo de superfície entre os dois métodos é pequena, porém significativa, pois, quanto maior a percentagem de óleo de superfície, mais suscetível a oxidação. Sendo assim, fator decisivo para a escolha do melhor método foi o valor da atividade de água, que foi mais elevada no tratamento 1 que no tratamento 3.

Levando em consideração a retenção do aroma característico de laranja em cada método, pôde-se observar que o aroma do produto cocristalizado é mais intenso que o liofilizado.No entanto, isso pode ter ocorrido devido ao fato do cocristalizado obter maior quantidade de óleo de superfície, o que não é satisfatório como foi observado anteriormente. Sendo assim, o método mais eficiente para microencapsulamento de OE de laranja foi considerado como sendo o encapsulamento por matriz de gelatina/sacarose seguida de liofilização, referente ao tratamento 3 onde a razão sacarose gelatina foi de 60:40.

6. Conclusões

Para obtenção de OE de laranja a hidrodestilação em aparelho de Clevenger foi eficiente gerando resultados positivos para OE que então permitíra ser microencapsulado.

Foram usadas as técnicas de cocristalização e liofilização para o microencapsulamento. Ambas geraram bons resultados em relação à retenção de óleo, com atividade de água e retenção de óleo de superfície com valores apropriados para o experimento. Entre as duas técnicas a que rendeu melhor resultado geral foi a liofilização, pois houve a menor retenção de óleo de superfície e menor atividade de água, sendo assim menor probabilidade de proliferação microbiana e degradação oxidativa sem perder o aroma característico da fruta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, A.K.S., NARAIN, N. (2009); Incorporação da farinha de resíduo de polpa de fruta em biscoitos: Uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**, vol.12, nº 4, 257-265,.

ADAMS, R. P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatohraphy/Mass Sprctrometry, 4th edição, 2007, Illinois, USA.

ALEXANDER, K. & KING C.J. (1985). Factor governing surface morphology of spray dried amorphous substances. **Drying Technology, vol. 3**, p.321-348.

ALMEIDA, J.V., FONTES, A.S. SOUZA, A., MOREIRA, J.J.S, NARAIN, N; (2009); Avaliação do perfil terpênico do óleo essencial da casca e físico-química da polpa de cajá-umbu. **V Simpósio brasiliero de óleos essenciais**. Rio de Janeiro, Brasil.

ASTIOLI FILHO, Z.; Encapsulação de Sucos de Frutas por Co-cristalização com Sacarose. **Dissertação**. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Campus de São José do Rio Preto – 2003, São Paulo.

AWAD, A. E CHEN, A.C. (1993).; A new generation of sucrose products made by cocrystallization. **Food Technology**, 47: 146-148.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**. 46: 446 -475;

BARROS, Z. M. P., Casca de frutas tropicais como antioxidantes para enriquecimento de suco pronto. **Dissertação** de mestrado, ESALQ – Piracicaba, 2011.

BARROSO, G. M, GUIMARÃES, E. F, ICHASO, C. F., COSTA, C.G; PEIXOTO, A.L; LIMA, H.C. Myrtaceae. In: **Sistemática de Angiospermas do Brasil**.Viçosa, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa- MG, n.2, 1984.

BASER, K.H.C. and BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications**. Taylor and Francis Group, 2010.

BERISTAIN, C.I., MENDOZA, R.E., GARCIA, H.S. & VAEQUEZ, A. (1994). Co-rystallization of Jamaica (Hibiscus sabdarifa L.) granules. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 27, 347–349.

BERTOLINI, A. C. Estabilidade de óleo essencial de laranja, linalool e citral microencapsulados em goma arábica por atomização. **Dissertação** de mestrado,UNICAMP, Campinas, 1999.

BHANDARI, B. R.; DUMOULIN,E. D.; RICHARD, H.M. J.; NOLEAU, I.; LEBERT, A. M. (1992) Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. **Journal Food Science**. v.57, n.1, p. 217-221.

BHANDARI, B.R., HARTEL , R.W. (2002). Co-crystallization of sucrose at high concentration in the presence of glucose and fructose. Food Engineering and Physical Properties, **Journal of Food Science**, Vol. 67, Nº 5: 1797-1802.

BIZZO, H.. HOVELL A. M. C. E REZENDE C. M.; (2009) OE no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, vol. 32, nº 3, 588-594.

BLANCO, M. C. S. G., MING, L. C., MARQUES, M. O. M., Influência da temperatura de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de alecrim. **Revista Horticultura Brasileira**, vol. 18. 2000.

BRAZEL, C.S. (1999). Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, 44, 6, 388-393pp.

BRIELMANN, H. L.; SETZER, W.N.; KAUFMAN, P.B.; KIRAKOSYAN, A. Phytochemicals: The chemical components of plants. Natural products from Plants. 2. ed. London: Taylor&Francis Group. 2006. p. 10-19.

BRITO, H. R.. Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpúrea* L. *e Spondias* SP (cajarana do sertão). **Dissertação** de mestrado, UFCG - Patos, 2010.

BUENO, M. R. F.. **Aroma e Sabor dos Alimentos: Temas Atuais**. Editora Varela, 1º Edição, p. 51, 2004.

CAMPBELL, C.W. E SAULS, J.W. (1994). *Spondias* in Flórida: University of Flórida, **Fruit Crops Fact Suett**, F-63, 3-7pp.

CARVALHO. J. S. R.; Microencapsulamento de Óleo Essencial de Origanum virens L. em Matrizes de Gelatina e Gelatina/Sacarose. **Dissertação**, Lisboa, 2009.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H. e MOSQUIM, P.R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários. 2° ed. Visconde do Rio Branco: [s.e.], 2004.

CEVA-ANTUNES, P. M. N. (2006) Analysis of volatile composition of siriguela (*Spondias* purpurea L.) by Solid Phase Micro Extraction (SPME). **Lebensmitte Wissenschaft und Technologie**, v. 39, n.4, p.436-442.

CEVA-ANTUNES, P.M.N.; BIZZO, H.R.; ALVES, S.M.; ANTUNES, O.A.C.; (2003). Analysis of Volatile Compounds of Taperebá (*Spondias* mombim L) by Simultaneous Distillation and Extraction (SDE) and Solid Phase Microextraction (SPME). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 1387-1392.

CHAVAN, M. J., WAKTE, P. S., SHINDE, D. B**.,** (2011) Analgesic and anti-inflammatory activities of 18-acetoxy-ent-kaur-16-ene from **Annona squamosa** L. bark. **Inflammopharmacology,** vol.19, pg.111-115

CHEN, A.C. (1994). Ingredient technology by the sugar co-crystallization process. **International Sugar Journal**, 96, 493–494.

CHRISTENSEN, F. M., Extraction by Aqueous Enzymatic Process, **INFORM** v.2, p.984-987, 1991.

CRAVEIRO, A.A., QUEIROZ, D.C. (1992). Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, vol.16, 224-228p.CROCKER, G.C. E PRITCHEDT, D.E. (1978). Improved encapsulated citrus oils**. Food Technology**, 32, 8, 36-39pp.

DAWIDOWICZ, A. L., RADO, E., (2010). Matrix solid-phase dispersion (MSPD) in chromatographic analysis of essential oils in herbs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Vol.52, pg.79-85.

DEANS, S. G.; SVOBODA, K. P. Effect of drying on volatile oil and microflora of aromatic plants. **Acta Horticulturae**, n. 306, p. 450-2, 1992.

DOMINGUEZ, H., NÚÑEZ, M.J., LEMA, J.M. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review. **Food Chemistry** , v.49, p. 271-286, 1994.

DONADIO, L.C., NACHTIGAL, J.C., SACRAMENTO, C. K.. **Frutas exóticas**. Jaboticabal-SP: Editora Afiliada, p. 71-72, 1998.

EL-SAKHAWY, F. S.; EL-TANTAWY, M. E.; ROSS, S. A.; EL-SOHLY, M.A. (1998). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Murraya exotica L. **Flavour and Fragrance Journal**. 13: 59-62.

ESTECHE, C. A invisibilidade que brota no lixo. Rede Sul de Notícias, 2008. **Disponível em**: <http://www.redesuldenoticias.com.br/noticias/imprimir.asp?id=12088>. Acesso em 02 Dezembro de 2012.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 467-495.

FENNEMA, Owen R., (2007) Química dos Alimentos. Editora ArtMed

FLINK, J.M., Structure and Structure Transitions in Dried Carbohydrate Materials. In: **Physical Properties of Foods**, ed. Peleg, M. e Bagley, E.B., AVI Publishing Co., Westport, pp. 473-521, 1983.

FREITAS, S., HARTMAN, L., COURI, S. Alternativa biotecnológica ao uso de solventes orgânicos na extração de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**, n. 32, p. 29-32, 1996.

GALVÃO, M.S.; NARAIN, N.; DOS SANTOS, M.S.P.; NUNES, M.L.; (2011). Volatile Compounds and Descriptive Odor Attributes in Umbu (*Spondias tuberosa*) Fruits During Maturation. **Food Research International.**

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

GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; JANZANTTI, N.S.; ALVES, G.L. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (Anarcadium occidentale L.) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **J. Sci. Food Agric.**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.

GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de frutíferas nativas do Brasil. In: Simpósio nacional de recursos genéticos de frutíferas nativas, 1, 1992, Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 1993. p. 13-27.

GOMES, R.P. (1965). Mundo agrícola. São Paulo, v.14, n.159, p.94-97

GONSALVES, J. K. M. C, COSTA, A. M. B, SOUSA, , D.P., CAVALCANTI, S.C.H. NUNES, R.S. (2009). Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis (L) Osbeck* pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, Vol.5, Num 11.

GROSSMAN, L., Óleos Essenciais na culinária, cosmética e saúde, Editora Optionline, São Paulo, 301 p. 2005.

GUIMARÃES, R.; BARROS, L.; BARREIRA, J. C.; SOUSA, M. J.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: grapefruit, lemon, lime and orange. **Food Chem Toxicol**., v. 48, n.1, p.99-106, Jan 2010.

HERTWIG, I. F. Von. Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p

HOLETZ, F.B., PESSINI, G.L., SANCHES N. R., CORTEZ, D. A., (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treayment of infectious diseases. *Mem I Oswaldo Cruz*: 1027-1031.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Produção Extrativa Vegetal Tabela 289 Quantidade produzida na extração vegetal - Umbu (fruto) (Tonelada) Ano. 1990 a 2001. Banco de Dados Agregados. Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=289. Acesso em: 10 de junho de 2012

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Aromatic natural raw materials – Vocabulary: ISO 9235. Genebra, 1997. 8p.

KAUSHIK, V.; ROOS, Y.H. (2006). Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic sucrose-gelatin systems**. LWT – Food Science and Technology**, 40 (8): 1381-1391pp.

KENYON, M.M. & ANDERSON, R.J. (1988). Maltodextrins and low-dextrose-equivalence with syrup solids. **Flavor Encapsulation**, , ACS Symposium series nº 370, American Chemical Society, pg 7-11.

KING, A. H. Encapsulation of food ingredients: a review of avaible technology focusing hidrocolloids. In: RISH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. Washington, DC: ACS, p. 8-25, 1995.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

L.A.A., PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2000.

LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (a) the upgrading concept; (b) practical implementations **Bioresource Technology** , v. 87, p. 167-198.

LEMOS, T.L.G., NOGUEIRA, P.C., ALENCAR, J.W., CARVEIRO, A.A., Composition of the Leaf Oils of Four *Spondias*Species from Brazil. Jounarl of Essential Oil, vol. 7 , issue 5, 1995.

LEON, J., SHAW, P.E. (1990). *Spondias*: the red mombin and related fruits. In: NAGY, S; SHAW, P.E., WARDONSKI, F.W. Ed. Fruits of tropical and subtropical origem: composition, properties and uses. Lake Alfred: Florida **Science Sourse**, p. 117 – 126.

LIMA, E.D.P.A.; LIMA, C.A.A; ALDRIGUE, M.L.; GONDIM, P.S. (2002). Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) em cinco estádios de maturação, da polpa e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura.** Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 338-343.

LORENZI, H. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas. Nova Odessa-SP: **Instituto Plantarium de Estudos da Flora** Ltda, p. 357, 2006.

LUPE, F. A.; Estudo da composição química dos óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas- Campinas – 2007, São Paulo.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, N.; DESOBRY, S. (2006). Flavor encapsulation and controlled release – a review**. International Journal of Food Science** and Technology, 41: 1-21pp.

MAGDASSI, S. E VINETSKY, Y. (1996). Microencapsulation of oil-in-water emulsion by proteins. **Microencapsulated Methods and Industrial Applications**. Edited by Benita, S.; Marcel, Dekker, Inc., New York, 21-34pp.

MAHMOUD, S. S., CROTEAU, R., (2002) Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants; **Trends Plant Sci**. vol.7 366–373.

MARGALIT, S. E YERUSHALMI, N. (1996). Pharmaceutical aspects of liposomes: perspectives in and integration of academic and industrial research.

Microencapsulated Methods and Industrial Applications. Edited by Benita, S.; Marcel, Dekker, Inc., New York, 259-296pp.

MARTINS, S.T.; MELO, B. *Spondias* (cajá e outras). Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, MG. **Disponível** em: HTTP://www.fruticultura.iciag.ufu.br/cajá.html acessado em: 16/11/2012.

MEDEIROS, S. S. A. Obtenção de pó de umbu (*Spondias* tuberosa Arr. Câmara) para umbuzada: processamento e caracterização do pó. **Dissertação** de mestrado. Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2004.

MONTANARI, R.M -Composição quimica e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de Anacardiaceae, Siparunaceae eVerbenaceae. **Tese** (Pós graduação em Agroquimica) Universidade Federal de Viçosa, 2010.

MORITA, M.; SHIBUYA, M.; KUSHIRO, T.; MASUDA, K.; YUTUKA, E. (2000). Molecular cloning and functional expression of triterpene synthases from pea (Pisum sativum). **European Journal of Biochemistry**. 267: 3453v-3460.

MOSKOWITZ, H.R. Product testing and sensory evaluation of foods: marketing and R & D approaches. Westport, **Food & Nutrition,** Press, 1983. 605 p.

MOURTZINOS, N. K ALOGEROPOULOS, S. E PAPADAKIS, K. KONSTANTINOU, V. T K ARATHANOS. (2008). Encapsulation of Nutraceutical Monoterpenes in B-Cyclodextrin and Modified Starch, **Journal of Food Science**, Vol 73, nº1.

NARAIN, N., ALMEIDA, J. N., GALVÃO, M. S., MADRUGA, M. S., & BRITO, E. S. (2004). Compostos voláteis dos frutos de maracujá (Passiflora edulis forma Flavicarpa) e de cajá (*Spondias* mombin L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência Tecnologia Alimentos**, 24, 212−216.

NARAIN, N.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S. (2007). Volatile compounds captured through purge and trap technique in caja-umbu (*Spondias* sp.) fruits during maturation. **Food Chemistry**, 102, pg 726-731.

NIST 08, Library. Search v. 2.0. lnk: **Database in MS Workstation and Nist Format**. Aracaju, 2013.

OLIVEIRA, R. B., GODOY, S. A. P., COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto – SP: Editora Holos, 2003. 64p.

PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. (1999). Encapsulation and Controlled Release in Food Preservation. In Rahman, M.S. (ed.), **Handbook of Food Preservation**, Chap.21. Marcel Dekker, Inc. New York, U.S.A.

PELIZER, L. H.; PONTIRRI, M. H.; MORAES, I. O. (2007). Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, Chile, v. 2, n. 1, p.118-127.

PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. 2004. p. 1-10.

PINHEIRO, D.M.; PASTORE, G.M. Produção biotecnológica de compostos de aromas. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 195-206.

PINTO, S. A. A. Processamento mínimo de melão tipo Orange Flesh e de melancia 'Crimson Sweet'. Jaboticabal, 120 p. **Dissertação** - (Mestrado em Fitotecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" 2002.

PINTO, S. A. A. Processamento mínimo de melão tipo Orange Flesh e de melancia 'Crimson Sweet'. Jaboticabal, 120 p. **Dissertação** - (Mestrado em Fitotecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" 2002.

PORTAL NEGÓCIOS COM FLORES < http://www.negocioscomflores.com.br/artigos/artigos_publicados_boticario_perfume.html> acesso em 01 de fevereiro de 2013.

PORTAL ÓLEOS ESSENCIAIS < http://www.oleoessencial.com.br/ acesso em 20 de dezembro de 2012>.

POTHAKAMURY, U.R. E BARBOSA-CANOVAS, G.V. (1995). Fundamental aspects of controlled release in foods**. Trends in Food Science and Technology**, 6, 397–406pp.

QUEIROZ, A.J. de M. Propriedades físicas e pré-resfriamento de umbu (Spondia tuberosa Arruda Câmara). 145f. **Dissertação** de mestrado. Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande: UFPB, 1994.

QUELLET, C., SCHUDEL, M. & RINGGENBERG, R. (2001). **Flavors and Fragrance Delivery Systems**. Chimia, 55, 421–428.

RADÜNZ, L. L. Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa Huds*). 2004. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Viçosa.

REINECCIUS, G. A. (1995). **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, DC: ACS, p. 8-25.

RIBEIRO, C. M. M.. Microencapsulamento de aromas alimentares. Estudo da eficiência de diferentes matrizes e tecnologias de encapsulamento. **Tese** de Doutorado em Engenharia Agro-Industrial. Instituto Superior de agronomia. Lisboa. , 2007.

RIZZOLO, A., POLESELLO, A. AND POLESELLO, S. Use of headspace capillary GC to study the development of volatile compounds in fresh fruit. **Journal of High Resolution Chromatography,** 15, 472–477, 1992.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J. & TALMON, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural Food Chemistry, 36**, p. 1288-1294,

SABIN, G. P., PRESTES, O. D., MARTINS, M. L., ADAIME, M. B., ZANELLA, R., (2011) Aumento da resposta analítica por meio da otimização do sistema de injeção sem

divisão de fluxo em cromatografia gasosa empregando a lei dos gases ideais. **Química Nova**, vol. 34, n°3, pg.414-418.

SANTIN, M. R., SANTOS, A. O., NAKAMURA, C. V., DIAS FILHO, B. P., FERREIRA, I. C. P., NAKAMURA, T. U.; (2009) In vitro activity of the essential oil of **Cymbopogon citratus** and its major component (citral) on **Leishmania amazonensis.** *Parasitology Research**, vol. 105, issue 6 1489-1496.***

SANTOS, A.P.; DANTAS, A.C.V.L.; FONSECA, A.A.O.; SILVA, P.M.; SANTOS, L.C.B.; FONSECA, M.D.S. Características químicas de frutos de umbu-cajazeira provenientes da região do recôncavo da Bahia e adjacências: ANO I. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura e **54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Vitória, 2008.

SANTOS, E. (2008) Utilização de enzimas produzidas por *Trichoderma reesei* e *Aspergillus Niger* na extração de óleos essenciais. **Dissertação**. Universidade Estadual de São Paulo "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara – São Paulo.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-413.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-413.

SEO, K.A.; KIM, H.; KU, H.Y.; AHN, H.J.; PARK, S.J.; BAE, S.K.; SHIN, J.G.; LIU, K.H. (2008). The monoterpenoids citral and geraniol are moderate inhibitors of CYP2B6 hydroxylase activity. **Chemico Biological Interactions**. 174: 141-146

SHAHIDI, F. E HAN, X.-Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. Critical Reviews in **Food Science and Nutrition**, 33(6): 501-547.

SHANKAR, D., AGRAWAL, Y.C., SARKAR, B.C., SINEH, B.P.N. Enzymatic hydrolysis in conjunction with conventional pretreatments to soybean for enhanced oil availability and recovery. **Jornal of AOCS** , v.74, n. 12, p. 1543-1547, 1997.

SHIMIZU, M. T., BUENO, L.J.F. RODRIGUES, R.F.G., SALLOWICZ, F.A., SAWAYA, A.C.H.F., MARCONES, M.O. M., (2006) Essential oil of Litharaea molleoides (vell): Chemical composition and antimicrobial activity. **Brazilian Journal of Microbioology,** vol.37, pg.556-560.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5ª ed., Ed. da UFSC: Porto Alegre, 2004.

SINGH, P., SHUKLA, R., PRAKASH, B., KUMAR, A., SINGH, S., KUMAR, P., DUBEY, N. K., (2010) Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of **Citrus maxima** Burm. and **Citrus sinensis** (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food and Chemical Toxicology**, vol.48, pg.1734-1740.

SOUZA, F. X. de; BLEICHER, E. Comportamento da Cajazeira enxertada sobre umbuzeiro em Pacajus,CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n. 3, p.790-792. 2002.

SOUZA, F.X.de, SOUZA, F.H.L., FREITAS, J.B.S., ROSETTI, A.G. Aspectos morfológicos da unidade de dispersão de cajazeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n. 1, p. 215-220, 2000.

SPEIRS, J.; BRADY, C. J. Modification of gene expression in ripening fruit. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 18, p. 519 – 532, 1991.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; trad. SANTAREM et al. Fisiologia Vegetal. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

THOMAZINI, M. & FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Bol. da Soc. Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 34: 52-59, 2000.

TORRES, L.B.V.; QUERIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R.M.F.. (2003). Viscosidade aparente da polpa de cajá-umbu concentrada a 10ºC. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, vol.5, n.2, p. 161-168.

TULEY, L. (1996). Breaking free update on controlled flavour release. **International Food Ingredients**, 3, p.14–18.

TURINA, A. Del V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. (2006). Natural terpenes: Self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**. 122: 101-113.

VEIGA V. F. Jr., PATITUCCI, M. L., PINTO, A. C., (1997) Authenticity Control of Commercial Copaiba Oils by High Resolution Gas Chromatography. **Química Nova**, 20(6) p.612-615).

VILLANUEVA, H.E., SETZER, W. N., Cembrene Diterpenoids: Conformational Studies and Molecular Docking to Tubulim. **Record of Natural Products**, vol.4, n°2, 115-123, 2010.

VINHA, S.G.S., MATTOS, L. A. Árvores aproveitadas como sombreadoras de cacaueiros no Sul da Bahia e Norte do Espírito Santo. Ilhéus: **CEPLAC CEPET**, 136 p. 1982.

WATTS, P. J.; DAVIES, M. C.; MELIA, C. D. (1990). Microencapsulation using emulsification/solvent evaporation: an overview of techniques and applications. **Critical Reviews. Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 7, n. 3, p. 235-259.

WOLFFENBÜTTEL, A. N., Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: abordagem técnica e científica . São Paulo : Roca, 2010.

YANG Y. K. B., BOZER N., PATE, B., BAKER, C., GIZIR, A. M., (2007) Terpene degradation and extraction from basil and oregano leaves using subcritical water**.** **Journal of Chromatography A**. 1152: 262-267.

ZHAO, H., HOLLADAY, J. E., BROWN, H., Z-ZHANG, C.; (2007) Metal Chlorides in Ionic Liquid Solvents Convert Sugars to 5-Hydroxymethylfurfural. **Science**, vol.316, pg.1597-1600.

ZWENGER, S.; BASU, C. (2008). Plant terpenoids: applications and future potentials. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**. 3 (1): 001-007.