

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

FERNANDA GUBERT DE SOUZA

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE LARANJA 'PERA' (*CITRUS
SINENSIS L. OSBECK*) POR HIDRODESTILAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA
E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

**Bagé
2023**

FERNANDA GUBERT DE SOUZA

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE LARANJA 'PERA' (*CITRUS SINENSIS L. OSBECK*) POR HIDRODESTILAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) apresentado ao curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof^ª Dr^ª Andressa Carolina Jacques

Co-orientadora: Prof^ª Dr^ª Caroline Costa Moraes

**Bagé
2023**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

d278e de Souza, Fernanda Gubert

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE LARANJA 'PERA'
(Citrus sinensis L. Osbeck) POR HIDRODESTILAÇÃO:
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA / Fernanda
Gubert de Souza.

63 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 2022.

"Orientação: Andressa Carolina Jacques Jacques".

1. Reaproveitamento. 2. Conservante natural. 3. Limoneno.
I. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal do Pampa

FERNANDA GUBERT DE SOUZA

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DE LARANJA 'PERA' (*CITRUS
SINENSIS L. OSBECK*) POR DIDRODESTILAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal do Pampa,
como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel
em Engenharia de Alimentos.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 07 de fevereiro de
2023.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Andressa Carolina Jacques
Orientador
UNIPAMPA

Profa. Dra. Caroline Costa Moraes
UNIPAMPA

Profa. Dra. Valéria Terra Crexi
UNIPAMPA



Assinado eletronicamente por **VALERIA TERRA CREXI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 08/02/2023, às 22:02, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **CAROLINE COSTA MORAES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 09/02/2023, às 14:04, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **ANDRESSA CAROLINA JACQUES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 09/02/2023, às 17:36, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1052119** e o código CRC **E3E65A46**.

Referência: Processo nº 23100.002810/2023-72 SEI nº 1052119

AGRADECIMENTO

Agradeço à minha família pelo apoio e incentivo, desde sempre fazendo de tudo para garantir minha educação. Agradeço também aos meus familiares, que sempre estiveram torcendo por mim e me guardando em suas lembranças. Gratidão as minhas amizades de infância, por estarem presentes mesmo longe, a distância só nos fortaleceu.

Agradeço à minha Orientadora, por me abraçar e me auxiliar durante todo o ano, ouvindo as reclamações e suspiros de desespero. Um agradecimento muito especial também à minha Coorientadora por todo o apoio e ensinamentos durante o trabalho. Agradeço a técnica Cândice, pela paciência e parceria de dias no laboratório. Muito obrigada aos professores que contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal, vocês ensinam muito além daquilo que está previsto na grade curricular.

Agradeço a todos amigos que fiz em Bagé, principalmente durante a graduação, obrigada pelos cafés na cantina, conversas, festas, surtos e risadas. Aos colegas do curso de Engenharia de Alimentos, obrigada pela ajuda e parceria durante esses anos.

Um agradecimento especial para a Pamela e a Ana, pelos dias de estudo, risadas, desabafos e parceria sempre. Vocês fizeram com que eu me sentisse em casa e tornaram minha graduação muito mais leve e especial. Sem vocês eu não teria conseguido.

RESUMO

O óleo essencial é um composto volátil de substâncias lipofílicas, líquidas e odoríferas, possuindo aroma, cor e sabor único. São extraídos a partir de plantas aromáticas e podem ser sintetizados por todos órgãos da planta. São conhecidos mais de 3000 óleos essenciais sendo que 300 deles são comercialmente importantes para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e químicas. O Brasil é destaque como produtor de óleo essencial no mundo, estando entre os 4 maiores produtores mundiais. Dentre os métodos de extração, o principal utilizado laboratorialmente no Brasil é a hidrodestilação. O Brasil é o maior produtor mundial de laranja, e a laranja 'Pera' faz parte do grupo de laranjas comuns e é uma importante variedade entre citros no país. A casca da laranja possui uma variedade de compostos fenólicos e alta concentração de limoneno. Devido a alta produção da fruta no Brasil, tem-se uma grande quantidade de resíduos industriais gerados, provenientes principalmente da indústria de suco, que geralmente são descartados. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo realizar a extração do óleo essencial da casca da laranja por hidrodestilação, avaliar seu rendimento e atividade antimicrobiana, assim como, realizar a caracterização química do óleo essencial obtido. As extrações foram realizadas por hidrodestilação utilizando Clevenger. O rendimento foi determinado entre a relação da massa de fruta utilizada e a massa de óleo obtido, obtendo 1,81%. O óleo essencial de laranja foi caracterizado por CG-MS, onde foram analisados os compostos voláteis e sua composição química, identificando os compostos polares e apolares presentes. Os principais compostos voláteis encontrados foram alfa-limoneno, beta-mirceno, decanal, beta-linalol e alfa-pineno. A atividade antioxidante foi analisada através do método de sequestro do radical DPPH, encontrando 3,43%, valor baixo comparado com a literatura. A análise dos compostos fenólicos foi avaliada utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, encontrando 437,51 mg ácido gálico.100g⁻¹. A atividade antimicrobiana foi analisada pela técnica de disco-difusão e por compostos voláteis frente aos microrganismos gram-positivo *Staphylococcus aureus* e gram-negativo *Escherichia coli*. O óleo essencial obtido apresentou inibição por compostos voláteis frente ao microrganismo *E. coli* e por disco-difusão frente ao gram-positivo *Staphylococcus aureus*. No presente estudo, concluiu-se que o óleo essencial apresenta atividade antimicrobiana significativa. A alta concentração de Limoneno e compostos fenólicos encontrados influenciam nessa atividade. Os compostos identificados são os componentes majoritários dos óleos essenciais de laranja e possuem atividade antimicrobiana, antiinflamatória e anticarcinogênica, tornando-se viável a possibilidade para o estudo e aplicação do óleo essencial de casca de laranja como possível conservante alimentar.

Palavras-chave: Reaproveitamento. Conservante natural. Limoneno.

ABSTRACT

Essential oil is a volatile compound of lipophilic, liquid, and aromatic substances, having a unique scent, color, and flavor. They are extracted from aromatic plants and can be synthesized by all plant parts. More than 3000 essential oils are known, where 300 are commercially crucial to food, pharmaceutical, and chemical industries. Brazil is considered a leading essential oil producer, one of the four biggest producers worldwide. Among the extraction methods, the major one used in laboratories in Brazil is hydrodistillation. On the other hand, Brazil is the largest orange producer, and the 'Pera' orange is a kind of common orange, being a critical variety among citrus in the country. The orange peel has a variety of phenolic compounds and a high concentration of limonene. Due to the increased production of this fruit in Brazil, a consequently large amount of industrial waste is generated, mainly from the juice industry, which is generally discarded in landfills. Given the above, this work aims to extract essential oil from the orange peel through the hydrodistillation method, evaluate its yield and antimicrobial activity, and characterize the essential oil obtained chemically. The extractions were performed by hydrodistillation using Clevenger. The yield was determined through the ratio between fruit mass used and oil mass obtained, resulting in 1.81%. The orange essential oil was characterized by GC-MS, where the volatile compounds and their chemical composition were analyzed, identifying polar and apolar compounds present. The main volatile compounds found were alpha-limonene, beta-myrcene, decanal, beta-linalool, and alpha-pinene. The antioxidant activity was analyzed using the DPPH free radical scavenging method, defined as 3.43% (a low value compared to the literature). The analysis of phenolic compounds was evaluated using the Folin-Ciocalteu Assay, resulting in 437.51 mg gallic acid.100g⁻¹. The antimicrobial activity was analyzed by the disk diffusion method and by volatile compounds against gram-positive *Staphylococcus aureus* and gram-negative *Escherichia coli* microorganisms. The produced essential oil showed inhibition by volatile compounds against the microorganism *E. coli* and inhibition by disk diffusion against the gram-positive *Staphylococcus aureus*. In the present study, it was concluded that essential oil shows significant antimicrobial activity. The high concentration of Limonene and phenolic compounds found influence this activity. The identified compounds are the major components of orange essential oils. They have antimicrobial, anti-inflammatory, and anticarcinogenic activity, which makes viable the possibility for the study and application of the orange peel essential oil as a possible food preservative.

Keywords: Reuse. Natural Preservative. Limonene.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura química de alguns terpenos | 21 |
| Figura 2 – Dispositivo SPME comercializado | 22 |
| Figura 3 – Processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger | 25 |
| Figura 4 – Aparência das flores, folhas e frutos de <i>Citrus sinensis</i> | 29 |
| Figura 5 – Ilustração de uma laranja em corte equatorial | 29 |
| Figura 6 – Estrutura química do d-limoneno | 31 |
| Figura 7 – Aparelho Clevenger | 36 |
| Figura 8 – Cromatograma dos compostos orgânicos voláteis | 43 |
| Figura 9 – Halos de inibição por disco-difusão da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> | 48 |
| Figura 10 – Análise dos voláteis frente a bactéria <i>Escherichia coli</i> | 49 |
| Figura 11 – Análise dos voláteis frente a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> | 50 |
| Figura 12 – Cromatograma dos compostos identificados na fração apolar | 63 |
| Figura 13 – Cromatograma dos compostos identificados na fração polar | 63 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Os principais óleos essenciais no mercado mundial | 20 |
| Tabela 2 – Trabalhos utilizando a extração de óleo essencial por hidrodestilação | 26 |
| Tabela 3 – Os principais compostos do óleo essencial da laranja 'Pera' | 32 |
| Tabela 4 – Aplicações do óleo essencial de laranja em alimentos | 34 |
| Tabela 5 – Análises físico-químicas | 41 |
| Tabela 6 – Principais compostos orgânicos voláteis do óleo essencial da laranja | 44 |
| Tabela 7 – Análises espectrofotométricas | 46 |
| Tabela 8 – Halos de inibição e Unidades Formadoras de Colônia contendo 20 µL de óleo essencial de laranja | 47 |
| Tabela 9 – Compostos orgânicos voláteis do óleo essencial da laranja | 64 |
| Tabela 10 – Fração polar dos compostos identificados do óleo essencial da laranja | 65 |
| Tabela 11 – Fração apolar dos compostos identificados do óleo essencial da laranja | 66 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – Food and Drug Administration

RDC – Resolução de Diretoria Colegiada

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

UFC – Unidade Formadora de Colônia

CG-SM – Cromatografia Gasosa acoplada no Espectrograma de Massas

SPME – Microextração em fase sólida

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 | CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA | 19 |
| 2.1 | Óleos essenciais | 19 |
| 2.1.1 | Composição química | 20 |
| 2.1.1.1 | Caracterização química dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa . . | 21 |
| 2.2 | Métodos de extração dos óleos essenciais | 23 |
| 2.2.1 | Hidrodestilação | 24 |
| 2.3 | Laranja 'Pera' <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck | 27 |
| 2.3.1 | Descrição botânica e morfológica | 28 |
| 2.3.2 | Resíduo industrial da laranja no Brasil | 30 |
| 2.4 | Óleo essencial da laranja | 30 |
| 2.4.1 | Capacidade antimicrobiana | 32 |
| 2.4.2 | Perspectivas futuras: aplicações do óleo essencial de laranja em alimentos | 33 |
| 3 | METODOLOGIA | 35 |
| 3.1 | Material | 35 |
| 3.2 | Métodos | 35 |
| 3.2.1 | Extração por Hidrodestilação | 35 |
| 3.2.2 | Análises físico-químicas | 36 |
| 3.2.2.1 | Rendimento | 36 |
| 3.2.2.2 | Análise de pH | 36 |
| 3.2.2.3 | Densidade Relativa | 36 |
| 3.2.2.4 | Análise Cromatográfica por Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas (CG-EM) | 37 |
| 3.2.2.4.1 | Análise dos compostos voláteis | 37 |
| 3.2.2.4.2 | Análise da fração apolar e polar | 37 |
| 3.2.3 | Análises espectrofotométricas | 38 |
| 3.2.3.1 | Atividade antioxidante | 38 |
| 3.2.3.2 | Fenóis totais | 39 |
| 3.2.3.3 | Atividade antimicrobiana | 39 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 41 |
| 4.1 | Análises físico-químicas | 41 |
| 4.1.1 | Avaliação do rendimento, pH e densidade relativa | 41 |
| 4.1.2 | Análise Cromatográfica por Cromatografia Gasosa acoplada a Espec- trometria de massas (CG-MS) | 42 |
| 4.2 | Análises espectrofotométricas | 46 |
| 4.2.1 | Atividade antioxidante por DPPH e compostos fenólicos | 46 |
| 4.2.2 | Atividade antimicrobiana | 47 |
| 5 | CONCLUSÃO | 51 |
| | REFERÊNCIAS | 52 |

| | |
|--|-----------|
| ANEXO A – CROMATOGRAMA DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS | 63 |
| ANEXO B – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS | 64 |
| ANEXO C – FRAÇÕES POLAR E APOLAR DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA . . . | 65 |

1 INTRODUÇÃO

O óleo essencial é definido, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como um composto volátil obtido por partes de plantas aromáticas principalmente através da destilação por arraste a vapor d'água (ANVISA, 2007). São misturas complexas de substâncias lipofílicas, líquidas e odoríferas, possuindo aroma, cor e sabor único, assim como inúmeras características biológicas e físico-químicas (LUPE, 2007). Além de suas funções ecológicas, que englobam a proteção contra predadores durante a germinação, a atração de polinizadores e a proteção contra a perda de água, os óleos essenciais são utilizados como matéria-prima em várias áreas industriais, como cosmética, farmacêutica, alimentícia e de materiais de limpeza (BAKKALI *et al.*, 2008). A escolha do método de extração utilizado é extremamente importante, visando aproveitar ao máximo a matéria-prima, obter um melhor resultado e manter a qualidade do produto (SERAFINI *et al.*, 2002). Segundo Lupe (2007) os métodos variam de acordo com a localização do óleo na planta, entre os mais utilizados estão: enfleurage; arraste por vapor d'água; extração com solventes orgânicos; prensagem; extração com dióxido de carbono supercrítico.

Dentre as espécies de plantas aromáticas, ricas em óleos essenciais, tem-se que a laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), que está entre as frutas mais consumidas da população brasileira, além de ter baixo custo, possui nutrientes como vitaminas C, A e B, minerais, fibras e compostos antioxidantes (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2008). O Brasil lidera como maior produtor de laranja do mundo, e o estado de São Paulo, região destinada a produção de sucos, corresponde a cerca de 80% da produção nacional. No ano de 2020, a produção chegou a 12.955.120 milhões de toneladas de laranja (IBGE, 2020). O consumo de laranja apresenta benefícios para saúde como na prevenção de inflamações, hidratação, controle da glicemia, benefícios para o intestino, entre outros (CITRUBR, 2009).

A alta produção de laranja no país também promove uma elevada quantidade de resíduo proveniente das indústrias de suco, que geralmente são utilizadas como ração animal ou descartadas e acumuladas no solo, agravando problemas ao meio ambiente (SUSUKI, 2019). Os resíduos da laranja correspondem a cerca de 50% do peso do fruto, contendo na casca uma composição rica em carboidratos solúveis e insolúveis que a tornam uma matéria-prima com alto valor agregado (RIVAS *et al.*, 2008). Algumas das alternativas para o aproveitamento destes subprodutos é a utilização dos mesmos como substrato para produção de proteínas microbianas, enzimas e materiais adsorventes, assim como em novos processos como produção de produtos orgânicos, fertilizantes, pectina, biocombustível e óleos essenciais (ABECITRUS, 2009).

Segundo Porto, Decorti e Kikic (2009), os constituintes do óleo essencial podem ser classificados em hidrocarbonetos, incluindo terpenos, sesquiterpenos e diterpenos, e compostos derivados destes hidrocarbonetos (álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e óxidos). Os óleos essenciais vegetais são caracterizados por apresentarem uma ótima capacidade antimicrobiana,

controlando bactérias patogênicas de origem alimentar, por conta dos componentes fenólicos e componentes de origem terpeno presentes (BAJPAI; BAEK; KANG, 2012). Os compostos fenólicos presentes no subproduto da laranja podem ser utilizados como antioxidantes, principalmente em alimentos para prevenção de rancidez e oxidação de lipídeos, podendo ser utilizado como substituto em aditivos sintéticos que são prejudiciais para o consumidor (KHAN *et al.*, 2010). As características dos óleos essenciais, assim como sua composição química, variam de acordo com a localização geográfica do fruto, sua adaptação no solo, condições climáticas e de cultivo (ASSUNÇÃO, 2013). São variadas as possíveis aplicações para o óleo essencial da casca da laranja, que a partir do reaproveitamento de um resíduo industrial, contribui com diversos benefícios à saúde do consumidor.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a extração do óleo essencial da casca da laranja por hidrodestilação utilizando Clevenger, avaliar seu rendimento e atividade microbiana, assim como, realizar a caracterização química do óleo essencial obtido. Para executar o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- Realizar extração do óleo essencial da casca da laranja por hidrodestilação utilizando Clevenger;
- Determinar os parâmetros físico-químicos de: rendimento, pH e densidade;
- Caracterizar a composição química do óleo essencial de laranja obtido através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas (CG-MS);
- Avaliar o potencial antioxidante e compostos fenólicos totais do óleo essencial obtido;
- Verificar a atividade microbiana frente a um microrganismo Gram positivo (*Staphylococcus aureus*) e um Gram negativo (*Escherichia coli*) do óleo essencial de laranja.

2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis, predominantemente compostos por terpenos, e são caracterizados pelo forte odor característico. Sua extração é realizada através de diversas plantas aromáticas e são líquidos, voláteis, límpidos e raramente coloridos, podendo ser sintetizados por todos os órgãos da planta, ou seja, botões, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes e casca (BAKKALI *et al.*, 2008).

Muitos deles são reconhecidos pelo FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos e aprovados como aditivos alimentares, além de já serem utilizados como aromatizantes há muito tempo (BURT, 2004). Antigamente eram conhecidos pela sua capacidade bactericida, fungicida e medicinal, além de serem utilizados nos alimentos atuando na conservação, como remédios antimicrobianos e anti-inflamatórios. Suas características se mantêm até os dias de hoje, porém atualmente há mais conhecimento sobre seus mecanismos de ação (ASBAHANI *et al.*, 2015).

Segundo a Resolução nº02 de 15 de janeiro de 2007, aprovada pela ANVISA, o óleo essencial pode ser utilizado como um aromatizante natural, obtido exclusivamente por métodos físicos, microbiológicos ou enzimáticos, a partir de matérias-primas aromatizantes naturais. Os óleos essenciais podem ser apresentados de forma isolada ou misturados entre si (BRASIL, 2007).

Segundo Bakkali *et al.* (2008) são conhecidos mais de 3000 óleos essenciais sendo que 300 deles são comercialmente importantes para a indústria alimentícia, farmacêutica, química e cosmética. O Brasil se destaca como produtor de óleo essencial, estando entre os 4 maiores produtores mundiais, juntamente com a China, Índia e Indonésia, isso se deve aos óleos essenciais cítricos, que são obtidos a partir das indústrias de suco no país (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Os principais óleos essenciais comercializados no mercado mundial estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Os principais óleos essenciais no mercado mundial

| Óleo essencial | Espécie |
|----------------------------|--|
| Laranja (Brasil) | <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck |
| Menta japonesa (Índia) | <i>Mentha arvensis</i> L. f. <i>piperascens</i> Malinv. ex Holmes |
| Eucalipto (tipo cineol) | <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>E. polybractea</i> R.T. Baker e <i>Eucalyptus</i> spp |
| Citronela | <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt e <i>C. nardus</i> (L.) Rendle |
| Hortelã-pimenta | <i>Mentha x piperita</i> L. |
| Limão | <i>Citrus limon</i> (L.) N.L. Burm. |
| Eucalipto (tipo citronela) | <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook. |
| Cravo-da-índia | <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. e L. M. Perry |
| Cedro (EUA) | <i>Juniperus virginiana</i> L. e <i>J. ashei</i> Buchholz |
| Lima destilada (Brasil) | <i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. e Panz.) Swingle |

Fonte: Adaptado de Bizzo, Hovell e Rezende (2009)

Os maiores consumidores mundiais de óleos essenciais são os Estados Unidos (40%), seguido da União Europeia (30%). O mercado mundial cresce a cada ano e gira em torno de US\$ 15 milhões/ano. O óleo essencial de laranja se destaca entre os exportados pelo Brasil internacionalmente. Porém, devido aos problemas de manutenção da qualidade dos óleos e a falta de investimento no ramo, o país não consegue crescer significativamente no cenário de exportação internacional deste produto (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Estes produtos podem ser aplicados de diversas maneiras, as principais são em perfumes, produtos sanitários e aditivos alimentares. Porém também podem ser utilizados em medicamentos, na agricultura e atuando na conservação de alimentos. Até mesmo alguns compostos presentes nos óleos essenciais, como o d-limoneno, o acetato de geranilo ou d-carvona, são frequentemente utilizados em sabonetes, cremes, solventes industriais e fragrâncias (BAKKALI *et al.*, 2008).

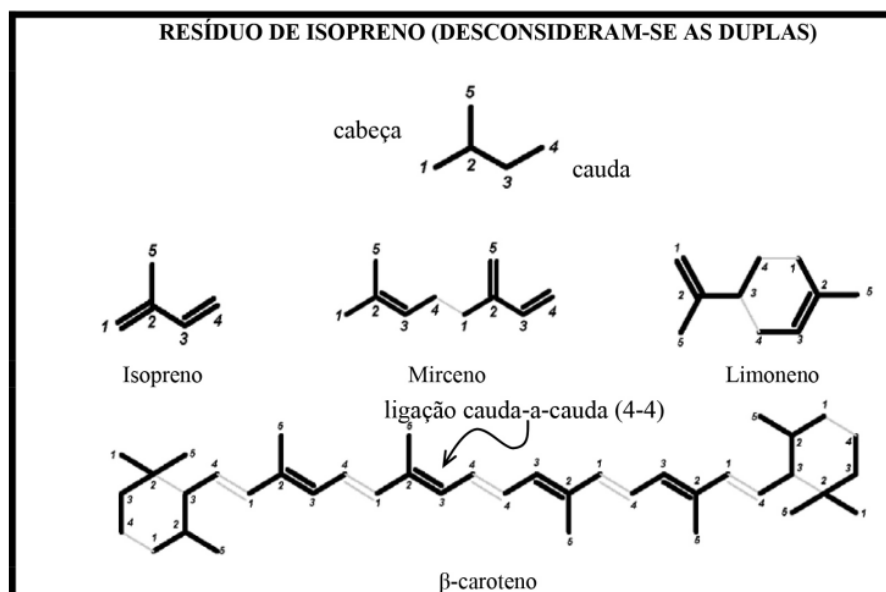
2.1.1 Composição química

As misturas naturais de óleo essencial podem conter cerca de 20 a 60 componentes em concentrações diferentes. São caracterizados por dois ou três componentes majoritários, que apresentam concentrações mais elevadas, de 20 a 70%, e outros componentes em quantidades mais baixas. O grupo principal é composto por terpenos e terpenoides, e o outro, de grupos aromáticos e constituintes alifáticos, todos com baixo peso molecular (BAKKALI *et al.*, 2008).

Estruturalmente e funcionalmente, os terpenos formam diferentes classes, que são obtidas a partir de diversas combinações de isopreno contendo cinco carbonos, que são ligados entre si pela ordem "cabeça-cauda" (ligação 1-4), como mostra a Figura 1. Existem terpenos com ligações diferentes, como a ligação "cauda-cauda", que é o caso do beta-caroteno, e os terpenos cíclicos, com ligações cruzadas, que é caso do limoneno (FELIPE; BICAS, 2017). Os principais terpenos são os monoterpenos e os sesquiterpenos. Os monoterpenos se formam a partir da ligação de dois isoprenos, e são as moléculas que constituem 90% dos óleos essenciais.

Os sesquiterpenos são formados por três unidades de isoprenos, tendo propriedades funcionais semelhantes aos monoterpenos. Os grupos aromáticos são derivados do fenilpropano e ocorrem com menos frequência quando comparados aos terpenos, sendo que as principais fontes para estes compostos são anis, canela, funcho, noz-moscada, salsa, entre outros (BAJPAI; BAEK; KANG, 2012).

Figura 1 – Estrutura química de alguns terpenos



Fonte: Felipe e Bicas (2017)

2.1.1.1 Caracterização química dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa

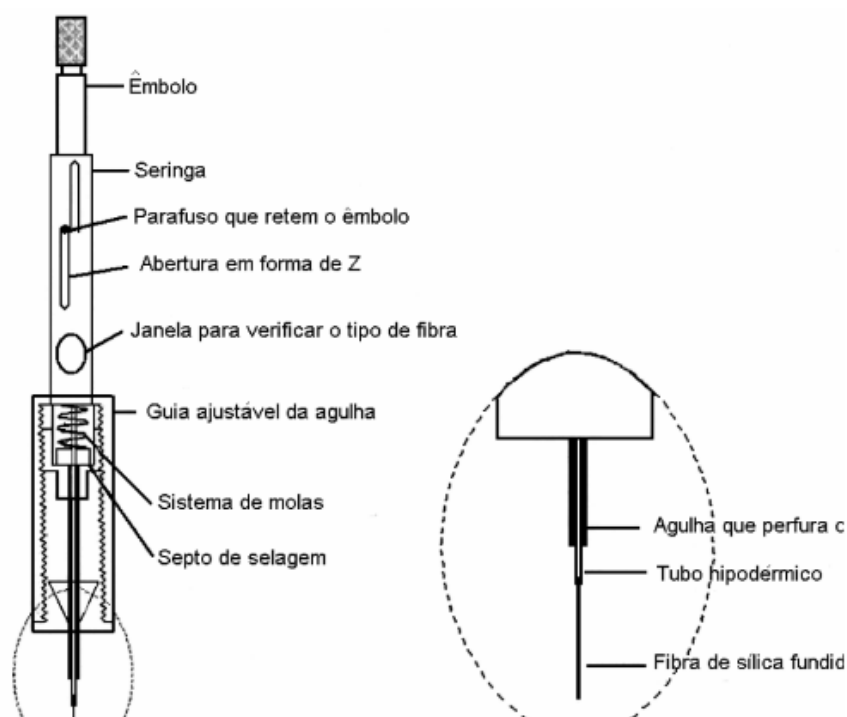
A avaliação da qualidade do óleo essencial é realizada através de técnicas analíticas, que identificam seus constituintes e garantem a segurança do produto. Para avaliação quantitativa, a fim de determinar a concentração dos componentes do óleo essencial, a cromatografia é um método muito utilizado. O método de Cromatografia Gasosa (CG) permite a separação da mistura em componentes individuais, e portanto, determinar as frações individuais dos compostos obtidos no cromatograma (ASSUNÇÃO, 2013).

Para realizar a identificação dos componentes do óleo essencial, utiliza-se a Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas - CGSM (do inglês Gas chromatography and mass spectrometry). Através da comparação dos sinais detectados na amostra com uma biblioteca do equipamento, é possível realizar a identificação dos compostos presentes. Cada componente tem um tempo para passar pela coluna cromatográfica, assim como um tempo de retenção para sair da coluna, que depende da natureza química da coluna, do componente, da temperatura e do sistema que transporta o gás. A quantidade de componente presente é determinada através da intensidade do sinal obtido no detector, demonstrando a concentração de cada substância (EFROM; SOUZA, 2018).

O processo se dá através da atomização e quebra dos componentes da amostra por ionização, ocorrendo a alteração da posição dos fragmentos da molécula via um campo eletromagnético. O sinal é registrado por conta da relação entre a carga elétrica e a massa dos fragmentos formados. Por fim, ocorre a identificação da substância através dos padrões obtidos na análise, relacionando-os com o banco de dados do equipamento (ADAMS, 2005). O óleo essencial exportado, é analisado por CGMS, assegurando sua procedência e qualidade (EFROM; SOUZA, 2018).

A microextração por fase sólida (SPME) permite a extração/identificação dos compostos voláteis presentes no óleo essencial, sem necessidade de um solvente. Esta técnica utiliza a amostra sem a etapa de concentração da mesma, tendo como vantagem a diminuição do tempo envolvido nas análises. Além disso, a SPME adapta-se a cromatografia gasosa. O método captura os analitos através de uma fibra, que é injetada no injetor do cromatógrafo, e com o aumento da temperatura, ocorre a dessorção térmica dos compostos para dentro da coluna (LORD; PAWLISZYN, 2000). O dispositivo utilizado (Figura 2) consiste em uma seringa modificada, que permite a exposição ou retração da fibra. A fibra contém sílica fundida, sendo revestida por diferentes tipos de revestimentos, que variam conforma a amostra analisada (GOMES, 2003).

Figura 2 – Dispositivo SPME comercializado



Fonte: Damasceno (2007)

A escolha correta da fibra utilizada é extremamente importante para garantir a eficiência do processo, e a polaridade do amostra influencia diretamente nesta escolha. Fibras apolares como polidimetilsiloxano (PDMS), são utilizadas para analitos de baixo peso molecular ou

muito voláteis, já para moléculas altamente polares, a fibra de poliacrilato (PA) torna-se mais adequada (BICCHI; DRIGO; RUBIOLO, 2000). Existem também fibras bi-polares, como o caso da divinilbenzeno-carboxen-PDMS, que são aplicados em voláteis e não voláteis de baixa a alta polaridade, permitindo maior eficiência nos resultados pois possibilita a identificação dos tanto dos compostos polares como apolares (GOMES, 2003).

A extração/identificação pode ser pelo modo direto ou por headspace. No segundo caso, a fase de extração entra em contato com o vapor em equilíbrio da amostra líquida. Após o tempo necessário de equilíbrio entre as fases, a seringa, contendo a fibra, é injetada no cromatógrafo e os compostos são dessorvidos com o calor, a partir daí, o processo de quantificação tem início. No modo headspace, o tempo para alcançar o equilíbrio é menor, pois compostos voláteis e semi voláteis se concentram mais no headspace, fazendo com que o transporte de massa seja mais rápido (LORD; PAWLISZYN, 2000).

2.2 Métodos de extração dos óleos essenciais

A escolha do método de extração utilizado dependerá da quantidade de óleo a ser obtida, da localização do mesmo na planta e do composto que se deseja obter. As distintas formas de extração fornecem um tipo diferente de extrato, variando sua composição química, mesmo sendo extraído da mesma espécie vegetal, além disso, o método utilizado varia de acordo com os objetivos de extração (SERAFINI *et al.*, 2002). Segundo Lupe (2007), os principais são a hidrodestilação, prensagem, enflourage, extração com solventes e extração com dióxido de carbono supercrítico (CO₂).

O método de prensagem a frio é muito utilizado principalmente na extração de frutos cítricos como laranja, limão e tangerina. Este processo tem sido uma opção nas grandes indústrias de suco de laranja no Brasil e no mundo, para que seja reaproveitado todo fruto. Neste processo, as laranjas são prensadas através de uma prensa hidráulica, devido ao esmagamento, são expelidos da fruta o suco e o óleo essencial. O óleo essencial é liberado devido ao rompimento dos vacúolos que os retém na casca da fruta, então, o óleo é removido por meio de jatos d'água formando uma emulsão que é composta por óleo essencial, fragmentos sólidos e outros resíduos. A emulsão é centrifugada para separação das fases, que consistem em três, sendo elas: leve, intermediária e pesada. A fase intermediária é rica em água e a fase pesada é composta pelos sólidos insolúveis. A fase que contém 80% do óleo essencial é a fase leve, que posteriormente é centrifugada e conduzida para os decantação onde ocorre a separação final do óleo essencial (NEVES, 2011a).

O método de enflourage é amplamente utilizado pelas indústrias de perfumes na extração do óleo essencial das pétalas de flores. As pétalas são colocadas sobre uma camada de gordura, a temperatura ambiente, durante pouco tempo. Ocorre a substituição destas pétalas até que seja atingida a saturação total. A gordura é tratada com álcool e então destilada a baixa temperatura para se obter o óleo essencial. Este processo é lento e possui alto valor comercial (LUPE, 2007).

A extração com solventes orgânicos ocorre geralmente com solvente apolar, como he-

xano, benzeno, metanol, etanol, acetona, entre outros solventes clorados. O solvente orgânico é colocado em contato com a matriz vegetal, após a transferência dos constituintes solúveis presentes, é efetuada a separação das fases sólidas e líquidas e o óleo é obtido pela evaporação do solvente presente na fase líquida. Os efeitos negativos deste método é que ocorre a extração de outros compostos lipofílicos, retirando também pigmentos da matéria-prima que são considerados contaminantes do óleo (STEFFANI, 2003).

Na extração por dióxido de carbono supercrítico (CO₂), o CO₂ é liquefeito por compressão e logo aquecido em uma temperatura superior a 32°C. Assim, atingindo um quarto estado, onde sua viscosidade é análoga a de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, elimina-se o CO₂ fazendo-o retornar ao estado gasoso. Esse método permite a recuperação de aromas naturais diversos, não apenas óleo essencial, além disso, nenhum traço do solvente permanece no produto obtido, se tornando uma alternativa eficiente (LUPE, 2007).

A hidrodestilação é um método muito utilizado em escala laboratorial, porém, há também o interesse industrial de seu uso para obtenção de voláteis. O princípio consiste na extração do óleo no arraste por vapor d'água, onde os constituintes do óleo possuem uma pressão de vapor mais elevada que a água, sendo arrastados. Este método é geralmente utilizado para extração de óleo de plantas frescas. A hidrodestilação possui baixo custo e praticidade, além de não utilizar solventes durante sua extração, que podem interferir na composição química do óleo essencial (ROCHA, 2013).

2.2.1 Hidrodestilação

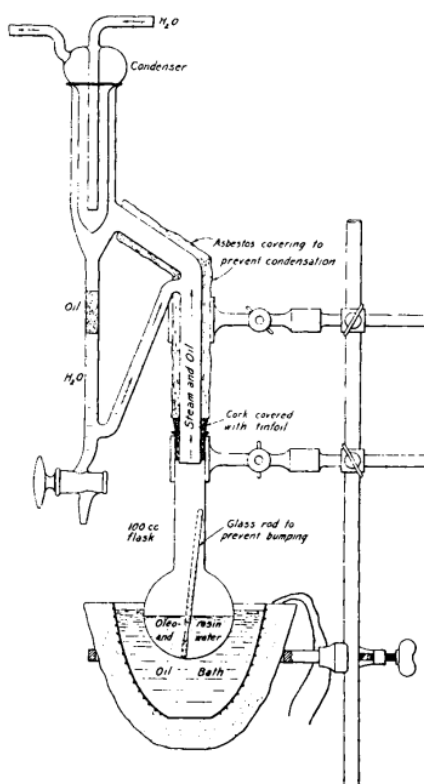
O óleo essencial, por ser muito volátil, se vaporiza rapidamente sob efeito da temperatura, por isso, o método de hidrodestilação é muito efetivo e amplamente utilizado no Brasil. A extração consiste na imersão da planta aromática com a água fervente, podendo estar flutuando ou imersa, através do contato da matéria vegetal com a água em ebulição, as paredes celulares do fruto se abrem e o óleo que está entre as células evapora devido ao vapor. O óleo evaporado é arrastado junto com a água, e vai para o condensador, onde é resfriado e separado devido a diferença de densidade. Deve ser realizada a secagem do óleo obtido, com sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro, a fim de purificar a amostra e eliminar qualquer resquício de água presente. (SILVA, 2011).

Neste processo, em alguns casos, é interessante realizar fragmentações da planta para que a extração seja mais efetiva e facilitar a remoção do óleo das glândulas da planta. Partes não fibrosas e finas como flores e folhas não precisam de fracionamento. O esmagamento das sementes é necessário nesse caso. As raízes, caules e cascas, devem ser cortados em comprimentos curtos (BUSATO, 2014).

O aparelho utilizado na hidrodestilação é o Clevenger, que consiste em três partes: um balão de fundo redondo, onde é adicionado o material a ser extraído e água; um separador, onde o óleo é separado do destilado em um tubo graduado, auxiliando na leitura da quantidade de

óleo; e um condensador, como apresentado pela Figura 3. O tamanho do balão deve variar de acordo com a natureza da matéria vegetal utilizada. Assim como, este equipamento não deve ser aquecido com chama direta para que não queime a matéria utilizada e apresente resultados errados. A quantidade de planta aromática deve ser medida para se obter, preferencialmente, de 1 a 3ml de óleo essencial (CLEVINGER, 1928).

Figura 3 – Processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger



Fonte: Clevenger (1928)

A hidrodestilação deve ser conduzida em um ritmo lento, para evitar a saída de vapores no condensador e perda do óleo essencial. O controle da temperatura também é muito importante, pois o extrato pode sofrer termo-degradação devido as altas temperaturas, resultando em perda dos compostos presentes e alteração do seu aroma. Caso não haja esse controle, os óleos essenciais podem apresentar menor qualidade, baixo rendimento e valor econômico (SERRANO; FIGUEIREDO, 2018). Por demonstrar-se um método efetivo, de baixo custo e sem a presença de solventes, a hidrodestilação tem sido utilizada em diversos estudos, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Trabalhos utilizando a extração de óleo essencial por hidrodestilação

| Autor | Título |
|----------------------------------|---|
| SANTOS <i>et al.</i> (2013) | Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (<i>Hypothenemus hampei</i>) Ferrari |
| Yokomizo e Nakaoka-Sakita (2014) | Atividade antimicrobiana e rendimento do óleo essencial de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> var. <i>pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum, Myrtaceae |
| Costa (2015) | Determinação da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais em óleos essenciais |
| Dannenberg (2017) | Óleo essencial de pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolius</i> RADDI): atividade antimicrobiana e aplicação como componente ativo em filme para bioconservação de alimentos |
| Gomes <i>et al.</i> (2018) | Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>) |
| Fontes (2021) | Fibras ultrafinas produzidas a partir de poli (ácido láctico), lignina e óleo essencial de pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi) sobrepostas em filmes de amido para aplicação em embalagens de alimentos |

Fonte: A autora, 2023

A hidrodestilação é um método utilizado com diferentes tipos de matéria-prima e para diferentes aplicações. Os estudos de Fontes (2021) e Dannenberg (2017), utilizaram do método para realizar a extração do óleo essencial da pimenta rosa, a fim de realizar sua aplicação em bifilmes, com o objetivo de auxiliar na conservação de alimentos, preservando as características do óleo essencial utilizado. A atividade antioxidante, compostos fenólicos, rendimento e atividade antimicrobiana são parâmetros analisados e estudados por Costa (2015) e Yokomizo e Nakaoka-Sakita (2014), que utilizaram da hidrodestilação para extração do óleo essencial e apresentaram resultados positivos, mantendo as características do óleo essencial. Este método faz com que as características físico-químicas e os componentes do óleo essencial não sejam afetadas, tornando-se uma alternativa muito utilizada em laboratório para diversos objetivos.

2.3 Laranja 'Pera' *Citrus sinensis* L. Osbeck

As laranjas são do grupo do gênero *Citrus* da família Rutaceae, que representam a maioria das laranjas, limas, limões, cidras, pomelos e tangerinas. A variedade 'Pera' faz parte do grupo de laranjas comuns e se destaca como uma importante variedade entre citros no Brasil (RAIMUNDO, 2018). No início do século 20, primeiramente cultivada no Rio de Janeiro, a laranja foi levada para São Paulo, desde então sua produção cresceu pelo estado e por todo o país. São originadas predominantemente do Sudeste da Ásia, porém, devido a colonização ibérica do Brasil, é possível afirmar que a variedade da laranja 'Pera' têm raízes genéticas em Portugal ou Espanha, sendo possivelmente originada por seleção da "Verna Peret", pois ambas são muito similares, além de que o próprio nome aparente ser uma adaptação de "Peret" (SALIBE; SOBRINHO; MULLER, 2002).

A variedade de laranja 'Pera' dentro do contexto de citricultura sempre foi muito importante. Já na década de 1930, o estado de São Paulo exportou a maior parte da sua produção, sendo um total de 37.387 caixas de 34 kg no ano de 1930 e 64.955 caixas de 34 kg em 1932, demonstrando o crescimento da exportação da fruta (SALIBE; SOBRINHO; MULLER, 2002). Nas safras de 2019/20 a produção mundial da laranja foi de 46 milhões de toneladas, sendo a principal fruta cítrica cultivada pelo mundo. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de citros, vindo em seguida da China, e o maior produtor global de laranja e suco de laranja. O país produziu 32% da produção mundial da fruta e 62% do volume global de suco de laranja na safra de 2020/21 (VIDAL, 2021).

O Rio Grande do Sul produziu, em 2021, 345.865 toneladas de laranja, sendo a cidade de Rosário do sul, a maior produtora do Estado. Neste mesmo ano, a produção nacional de laranja foi de 16.214.982 toneladas, movendo mais de 12 bilhões de Reais. Sendo assim, a produção no estado do RS foi responsável por 2,1% da produção nacional (IBGE, 2021). Há cerca de 12.000 famílias que produzem citros no Rio Grande do Sul, sendo que as principais áreas estão no Vale do Caí, Alto Uruguai, na Serra e na Fronteira Oeste. O clima e solo do Estado, favorecem a colheita de frutos com ótima coloração e sabor, tendo excelente potencial para frutos de mesa (EFROM; SOUZA, 2018).

São encontrados na laranja mais de 170 compostos fitoquímicos, onde mais de 60 deles são flavonoides, sendo uma das frutas com mais alto nível de antioxidantes, possuindo propriedades anti-inflamatórias e antitumorais, além disso, há presença de outros compostos como carotenoides, antocianinas, carboidratos, dentre outros que são importantes para a saúde e nutrição humana. A vitamina C presente na fruta auxilia no controle de doenças cardíacas, câncer e envelhecimento (RAIMUNDO, 2018).

A casca da laranja possui grandes quantidades de compostos fenólicos, e são mais bioativos quando comparados ao suco da fruta, devido a sua alta atividade biológica. Também em comparação ao suco e a polpa, a casca apresenta maior concentração de ácido ascórbico e componentes ativos como d-limoneno, hesperidina, naringina e aurapteno (HIGASHIMOTO *et al.*, 1998). Apesar da concentração de hesperidina ser menor no suco da laranja, ainda é significativa. Estudos demonstraram que seu consumo auxilia na queda de espécies reativas de oxigênio e outros marcadores inflamatórios no sangue após a refeição, e este efeito se deve a presença de naringina e hesperidina no suco de laranja (GHANIM *et al.*, 2010).

2.3.1 Descrição botânica e morfológica

Segundo Salibe, Sobrinho e Muller (2002), a árvore da laranja 'Pera' (Figura 4) é descrita como de porte médio, folhas pontiagudas, galhos mais ou menos eretos, muito produtiva e com maturação tardia. As frutas são caracterizadas por serem pequenas, com forma oval, de cor alaranjada, casca levemente lisa, polpa de cor laranja, três a quatro sementes por fruto, quantidade considerável de suco e com sabor levemente ácido, variando moderadamente de acordo da região produzida. A produção atinge, em média, 250 kg de frutos por planta, sendo que seu suco é 52% do peso do fruto, brix médio de 11,8%, acidez em torno de 0,95%, e a época de colheita é de julho a novembro.

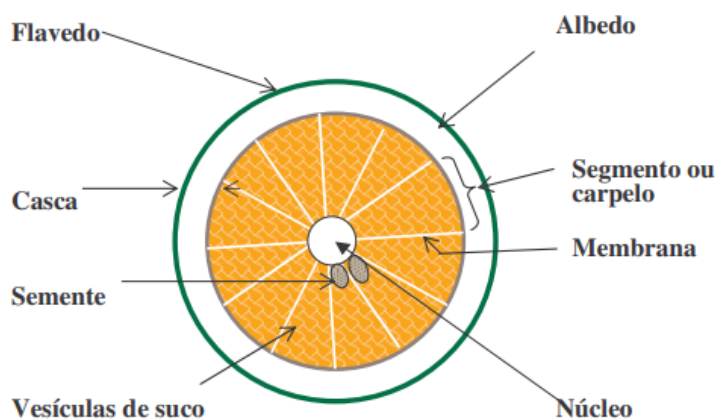
Figura 4 – Aparência das flores, folhas e frutos de *Citrus sinensis*



Fonte: Neves (2011b)

A morfologia das laranjas (Figura 5) é composta por duas regiões: o pericarpo, também conhecido como casca; e o endocarpo, chamado de polpa. O pericarpo contém duas camadas de tecido: o flavedo, ou epicarpo, que possui glândulas de óleo que criam terpenoides aromáticos, responsáveis pelo cheiro característico; e o albedo, ou mesocarpo, é a camada interior, que ao longo do desenvolvimento dos frutos, muda suas características e espessura, determinando a facilidade de descascar a laranja (SHARON-ASA *et al.*, 2003).

Figura 5 – Ilustração de uma laranja em corte equatorial



Fonte: Santana (2005)

2.3.2 Resíduo industrial da laranja no Brasil

Devido a alta produção de suco de laranja no Brasil, tem-se a alta quantidade de resíduos industriais gerados. Apenas metade do peso da laranja fresca é transformada em suco, sendo que o restante dos componentes (casca, polpa, sementes e folhas) são descartados, portanto, cerca de 50% do volume total produzido de laranja, destinado a produção de sucos no país, é descartado. Os resíduos da laranja podem ser divididos em cascas e membranas, resíduos cítricos, resíduos sólidos e resíduos líquidos, e possuem uma umidade de aproximadamente 82% (GARZON; HOURS, 1992). Estes resíduos são queimados, utilizados como ração animal, ou descartados no solo, porém, no último caso, o tratamento desse resíduo pode produzir águas residuais poluentes, impactando negativamente o solo e águas superficiais (MARTÍN *et al.*, 2010).

O excesso de umidade presente dificulta a utilização deste resíduo para o reaproveitamento, pois prejudica o transporte, armazenamento e coleta do mesmo. A secagem do bagaço resultante do processamento de suco acarreta em um custo elevado para a indústria, sendo mais interessante financeiramente o aproveitamento do resíduo úmido (ALEXANDRINO *et al.*, 2007).

A composição química dos resíduos da laranja é rica em pectina, fibras e carboidratos, fazendo com que o reaproveitamento deste resíduo seja benéfico para diversas áreas. Especificamente a casca da laranja, sua composição é caracterizada por 16,9% de açúcares solúveis, 9,21% de celulose, 10,5% de hemicelulose, e 42,5% de pectina (RIVAS *et al.*, 2008). Os subprodutos gerados são utilizados principalmente pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e químicas e podem ser empregados como: fertilizantes; produção de biocombustível e carvão ativado; extração de pectina; fibras alimentares; produção de enzimas; biossurfactantes; e óleos essenciais (ABECITRUS, 2009).

Segundo Rezzadori, Benedetti e Amante (2012), a extração de óleo essencial é um subproduto com alto valor comercial, se destacando como aromatizante na indústria alimentícia e cosmética, além de ser utilizado na produção de medicamentos e produtos de limpeza. O rendimento máximo de extração dos óleos cítricos é de 0,4%, então para cada tonelada de fruta processada são produzidos 4 kg de óleo, assim, considerando toneladas de resíduos gerados na produção de suco de laranja, a utilização da extração de óleo essencial torna-se uma alternativa eficiente para reaproveitamento (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

2.4 Óleo essencial da laranja

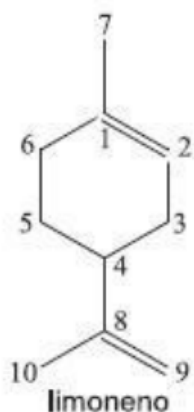
O Brasil é destaque na produção mundial de frutas cítricas e é o terceiro maior exportador de óleos essenciais, sendo que 90% deles são de óleos de frutas cítricas. A maioria destes óleos são obtidos através da prensagem a frio, como subproduto das indústrias de suco no país, porém o método de extração por arraste a vapor é também muito utilizado (SIMAS *et al.*, 2015). Segundo Bizzo, Hovell e Rezende (2009), o óleo essencial de laranja foi responsável por 86%

das exportações de óleos cítricos entre os período de 2005 a 2008. O principal exportador de óleo essencial de laranja para os Estados Unidos é o Brasil, totalizando 38.024 toneladas de óleo neste mesmo período.

O óleo essencial de laranja possui até 300 compostos diferentes e se dividem em duas partes, a não volátil e a volátil. A porção não volátil do óleo é composta principalmente por carotenoides e flavonoides. A porção volátil é composta por: cetonas; aldeídos; alcoóis; ésteres; e hidrocarbonetos terpênicos, como o limoneno, mirceno e valenceno (BAKKALI *et al.*, 2008). Os monoterpênicos com baixo peso molecular, apresentam uma alta volatilidade, característica muito importante para o aroma dos óleos cítricos.

O principal composto presente na casca da laranja é o monoterpêno limoneno, compreendendo mais de 90% dos compostos voláteis no óleo essencial da casca da laranja, pode-se observar sua estrutura química na Figura 6. Além de suas propriedades inseticidas e ansiolíticas, este composto é muito utilizado como aromatizante e como aditivo alimentar, aplicado amplamente em balas, doces e gomas de mascar (HOROWITZ; GENTILI, 1969).

Figura 6 – Estrutura química do d-limoneno



Fonte: Ferrarini *et al.* (2008)

A laranja 'Pera' apresenta o composto limoneno presente em seu óleo essencial, assim como a maioria das frutas cítricas, sendo o responsável pelo aroma característico do óleo. Seguido do composto linalol, conhecido pelas suas propriedades organolépticas e presente em diversas plantas aromáticas. Os compostos mirceno e linalol são os que apresentem maior concentração depois do limoneno, na maioria dos óleos essenciais de laranja. Outros constituintes do óleos essencial de laranja 'Pera' pode ser observados na Tabela 3 (SIMAS *et al.*, 2015).

Tabela 3 – Os principais compostos do óleo essencial da laranja 'Pera'

| Substância | Quantidade (%) |
|-----------------------|----------------|
| Limoneno | 85,32 |
| Linalol | 3,34 |
| Mirceno | 3,28 |
| n-octanal | 0,89 |
| Alfa-pineno | 0,86 |
| Cis-óxido de limonene | 0,81 |
| Sabineno | 0,77 |
| Alfa-terpineol | 0,68 |
| n-decanal | 0,61 |
| 3-careno | 0,39 |

Fonte: Adaptado, Simas *et al.* (2015)

Amostras de óleo essencial de laranja, coletadas de diferentes lugares do mundo, podem apresentar composições químicas diferentes. A produção dos óleos voláteis na planta e a composição do óleo é determinada a partir genética da planta, sendo característica do seu desenvolvimento. Além disso, as condições climáticas também influenciam diretamente nesse processo. O limoneno é o composto majoritário da maioria dos óleos essenciais coletados a partir da casca da laranja, porém, em outras partes da planta, os componentes podem variar de acordo com a região em que o fruto é coletado (ASSUNÇÃO, 2013).

Devido aos seus compostos bioativos e antioxidantes, o óleo essencial de laranja apresenta benefícios na desinfecção do organismo, atuando na renovação do sistema digestivo e circulatório. Por apresentar atividade antioxidante, sua atuação na pele auxilia na prevenção e tratamento de acne, eliminando toxinas e diminuindo lesões, além de estimular o colágeno, aumentando o fluxo sanguíneo na pele (BAIK *et al.*, 2008). Além disso, diversos estudos vem apresentando a atuação do óleo em atividades anticarcinogênicas, antitumorais, anti-inflamatórias e antibióticas. O composto limoneno, majoritariamente presente no óleo essencial da laranja, apresenta ação protetora no sistema gastrointestinal e pode ser utilizado no tratamento e prevenção de gastrites (MORAES *et al.*, 2009).

2.4.1 Capacidade antimicrobiana

Nos últimos anos, tem-se aumentado a preocupação dos consumidores com relação a ingestão de conservantes químicos. A procura por alternativas mais naturais está em crescente no mercado. Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recorreu ao pedido da redução do consumo de sal, a fim de diminuir as doenças cardiovasculares. Consequentemente, se o nível de sal nos alimentos processados diminui, se faz necessário a adição aditivos alimentares para garantir sua segurança, portanto, há oportunidade para implementação de métodos mais naturais na conservação dos alimentos (HERNÁNDEZ-OCHOA *et al.*, 2014).

Doenças de origem alimentar surgem quando um indivíduo consome um alimento contaminado por um microrganismo ou toxina, causando diversos sintomas como cólicas, febre, vômitos e diarreia. Este tipo de doença gera impactos econômicos, como perda de produtividade, custos médicos e perda de vendas. Entre os patógenos que estão presentes nos alimentos, os principais responsáveis por doenças transmitidas pela ingestão de alimentos e produtos contaminados são o *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Pseudomonas aeruginosa* (OUSSALAH *et al.*, 2007).

Antimicrobianos, por definição, são substâncias de origem natural, semi sintética ou sintética que atuam na inibição ou destruição de microrganismos, possuindo ação antifúngica, antibacteriana, antiviral, entre outras (SÁEZ-LLORENS *et al.*, 2000). Os óleos essenciais são uma alternativa para conservação de alimentos de forma mais natural, pois apresentam propriedades antimicrobianas e componentes que são ativos contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Essas propriedades se dão devido a sua origem vegetal, uma vez que possuem características naturais de defesa das plantas frente às condições adversas, como variações climáticas, ataques de microrganismos e animais superiores (BURT, 2004).

Os óleos essenciais já tem sido utilizados como aromatizantes em alimentos e bebidas, porém devido aos seus compostos antimicrobianos, podem também serem utilizados na conservação de alimentos. A atividade antimicrobiana do óleo essencial, se dá devido a presença de compostos terpenoides e fenólicos, e pode variar de acordo com a origem da planta, época de colheita, clima e armazenamento (OUSSALAH *et al.*, 2007).

O limoneno é o principal composto presente no óleo essencial de laranja responsável por sua capacidade antimicrobiana. Essa capacidade está relacionada com a habilidade do composto em penetrar na parede celular e causar o rompimento da membrana celular, resultando no vazamento citoplasmático, inibindo o crescimento micelial ocasionando a morte celular (KRINGEL *et al.*, 2017). Diversos estudos comprovam a capacidade antifúngica (KRINGEL, 2019), inseticida (BRANT, 2019) e antimicrobiana (FAZIO *et al.*, 2018) (EVERTON *et al.*, 2020) (HEBERLE *et al.*, 2016) do óleo essencial da laranja.

2.4.2 Perspectivas futuras: aplicações do óleo essencial de laranja em alimentos

Nos últimos anos, as principais aplicações dos óleos essenciais de citros tem sido na indústria cosmética, com sua aplicação em cremes e perfumes, e na indústria alimentar, utilizado como aditivos principalmente em balas e doces. Muitas pesquisas mostram potencial para aplicação destes óleos como conservantes alimentares, atuando contra bactérias e fungos, em diversos alimentos. Além disso, há também aplicações medicinais, onde o composto limoneno auxilia no tratamento de distúrbios psiquiátricos e estresse, pois possui ação antidepressiva sobre o sistema nervoso central (LEITE *et al.*, 2008). Alguns estudos das aplicações do óleo essencial em alimentos podem ser vistas na Tabela 4.

Tabela 4 – Aplicações do óleo essencial de laranja em alimentos

| Autor | Aplicação |
|--------------------------------|--|
| Sheikh, Mehnaz e Sadiq (2021) | Revestimentos com quitosana para conservação de frutas e legumes frescos |
| Kringel (2019) | Encapsulação para inibição do crescimento de <i>Aspergillus spp</i> em bolos |
| Shi <i>et al.</i> (2018) | Controle da deterioração de fatias de batata |
| Ferronato e Rossi (2017) | Extração e aplicação como ingrediente natural em gelatina |
| Coradini <i>et al.</i> (2016) | Efeito associado a fungicidas no controle de ferrugem na folha e complexo de manchas folhares do trigo |
| Pendleton <i>et al.</i> (2012) | Controle do crescimento de <i>E. coli</i> na refrigeração de bovinos em diferentes temperaturas |

Fonte: A autora, 2023

O óleo essencial de laranja tem sido muito estudado e aplicado como conservante alimentar, auxiliando na inibição do crescimento de microrganismos, como foi estudado por Shi *et al.* (2018) e por Pendleton *et al.* (2012). Também tem sido utilizado como um ingrediente natural e aromatizante em alimentos, como estudado por Ferronato e Rossi (2017). A encapsulação do óleo essencial da laranja é uma alternativa útil e viável para aplicação na conservação dos alimentos, pois aumenta a vida útil e estabilidade do óleo essencial, como foi aplicado por Kringel (2019). A sua atuação na conservação tem sido muito aplicada em revestimentos para alimentos, como frutas e verduras frescas, apontado por Sheikh, Mehnaz e Sadiq (2021). No controle de pragas e insetos na etapa de armazenamento, o óleo essencial de laranja também tem sido aplicado, onde o alimento tem grande disposição a contaminação, como estudado por Coradini *et al.* (2016).

Porém, ainda há alguns obstáculos na sua aplicação tecnológica em alimentos, como a necessidade de maiores concentrações de óleo essencial, a instabilidade dos compostos quando submetidos ao tratamento térmico, presença de oxigênio e luz, e componentes dos alimentos que podem se ligar a estas moléculas anulando sua ação (PENG *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de alternativas sustentáveis e naturais chama atenção dos consumidores, promoções envolvendo o reaproveitamento de produtos e preservação ambiental são conceitos importantes no marketing dos produtos. A inserção dos óleo essenciais obtido através do reaproveitamento de resíduos se torna destaque, fazendo com que sua produção seja rentável para o país. Torna-se essencial o investimento do governo, em parcerias com as universidades, para pesquisa, desenvolvimento e aplicação dos óleos essenciais, gerando produtos com maior qualidade e com maior valor agregado (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

3 METODOLOGIA

3.1 Material

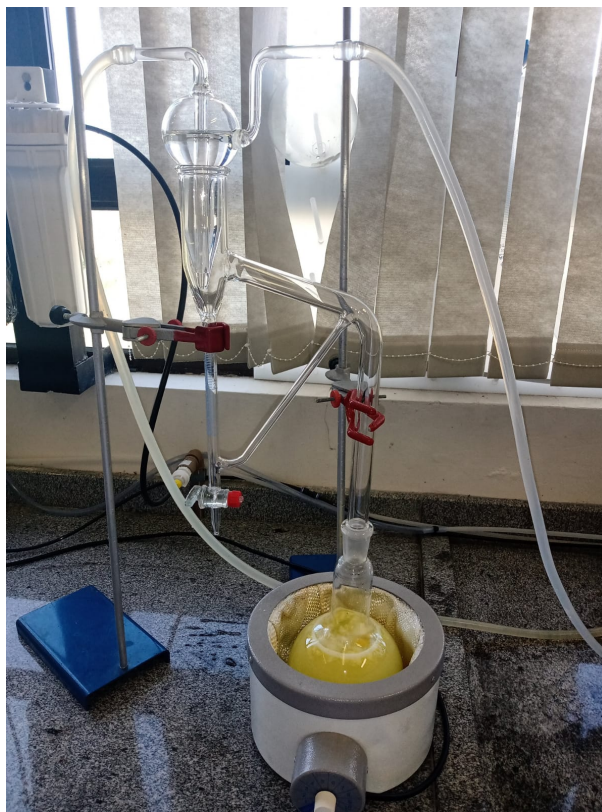
Foram utilizados os resíduos de laranja obtidos através do processamento de suco da rede de Supermercados Peruzzo, em Bagé - RS. As frutas foram cultivadas em Santa Margarida do Sul, no Rio Grande do Sul e colhidas em novembro de 2022. O resíduo consistiu nas laranjas cortadas ao meio, com o suco da fruta já extraído, restando apenas o epicarpo (casca) e mesocarpo. O resíduo foi conduzido para o laboratório de Desenvolvimento Tecnológico de Inovação Aplicados aos Olivais da Região da Campanha, localizado na Universidade Federal do Pampa - Campus Bagé, onde foi feito o descascamento da laranja, separando o epicarpo e mesocarpo, a fim de se obter apenas as cascas (epicarpo) da fruta. As cascas foram selecionadas, higienizadas e armazenadas sob refrigeração (4°C) até o momento da extração.

3.2 Métodos

3.2.1 Extração por Hidrodestilação

O óleo essencial da laranja foi obtido através do método de hidrodestilação, utilizando o aparelho Clevenger, conforme Figura 7. Foram adicionadas 100 gramas de cascas de laranja moídas em moinho analítico a um balão de fundo redondo de 1 L, com 800 ml de água. A hidrodestilação ocorreu em temperatura constante por 3 horas. Após, o óleo obtido foi desidratado com Sulfato de Sódio Anidro (Na₂SO₄), como descrito por Dannenberg *et al.* (2016) e congelado a -20°C. Este processo foi realizado 18 vezes, totalizando 1.868 gramas de casca de laranja utilizado.

Figura 7 – Aparelho Clevenger



Fonte: A autora, 2023

3.2.2 Análises físico-químicas

3.2.2.1 Rendimento

O rendimento do óleo essencial de laranja foi determinado através da relação entre a massa de casca utilizada (m_1) e a massa de óleo obtido (m_2) (DANNENBERG *et al.*, 2016). O cálculo foi realizado através da Equação 3.1.

$$x = \frac{m_2}{m_1} * 100 \quad (3.1)$$

3.2.2.2 Análise de pH

A determinação do pH foi realizada por pHmetro previamente calibrado com soluções tampão (pH 4 e 7).

3.2.2.3 Densidade Relativa

A densidade relativa foi determinada através de um picnômetro de 1 ml em temperatura ambiente, conforme descrito por Mendez (2019). O picnômetro foi pesado, limpo e seco, em

balança analítica, e após foi acrescentado 1 ml de óleo essencial. O picnômetro foi pesado e através da diferença de massa, a densidade relativa foi determinada, conforme a Equação 3.2.

$$D = \frac{(Pesopic + mamostra) - Pesopic}{VolumeOE} \quad (3.2)$$

Onde:

Pesopic = peso do picnômetro (g);

mamostra = massa do óleo essencial (g);

VolumeOE = volume do óleo essencial (ml).

3.2.2.4 Análise Cromatográfica por Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas (CG-EM)

3.2.2.4.1 Análise dos compostos voláteis

A amostra contendo os compostos orgânicos voláteis (COVs) foi preparada usando o método de microextração em fase sólida (HS-SPME) utilizando fibra de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, 50/30 $\mu\text{m} \times 20 \text{ mm}$) pré-condicionada seguindo o protocolo do fabricante. Para extração dos COVs, 1 mL de óleo essencial foi acondicionada em um frasco de 20 mL, em seguida, acrescentado 1 g de NaCl e 10 μL de solução padrão de benzofenona (2 μg), logo o frasco foi selado utilizando tampa de silicone revestidos com politetrafluoretileno. Os frascos selados, contendo o extrato, foram submersos em banho-maria a 40 °C por 15 min, posteriormente, a fibra foi exposta ao headspace por 15 min sob agitação constante. Os COVs foram quantificados e identificados usando um sistema de cromatografia em fase gasosa (CG) (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um detector espectrômetro de massas (Shimadzu QP2010 UltraPlus, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e coluna capilar Rxi-1MS (30 m \times 0,32 mm \times 0,25 μm , Restek U.S.). A temperatura da rampa foi mantida a 40 °C por 5 min, aumentada para 50 °C a 3 °C.min⁻¹, para 120 °C a 5 °C.min⁻¹, a 175 °C a 7 °C.min⁻¹ e, finalmente a 230 °C a 10 °C.min⁻¹ e mantido em condições isotérmicas por 8 min. A espectrometria de massa (MS) foi operada em modo de varredura completa (faixa de massa m/z 30 a 450). Os dados de CG-MS foram analisados usando LabSolution (GCMS solution Version 4.11 SU2). Os COVs foram identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas, com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos C8-C40 de acordo com Vandendool e Kratz (1963) e, por fim a análise quantitativa foi determinada por padronização interna.

3.2.2.4.2 Análise da fração apolar e polar

Para extração da fração apolar, 1 mL de extrato foi acondicionada em um frasco de 2 ml, em seguida, acrescentado 1000 mL de hexano e homogeneizado utilizando ultrassom por 5

min, por fim, centrifugados a 2000xg por 5 min. Os analitos foram quantificados e identificados usando um sistema de cromatografia em fase gasosa (CG) (Shimadzu QP2010 UltraPlus, Shimadzu Japão) equipado com um espectrômetro de massas detector de massas (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e coluna capilar Rxi-1MS (30 m × 0,32 mm × 0,25 m, Restek). A temperatura da rampa foi mantida a 60 °C por 1 min, aumentada para 180 °C a 5 °Cmin⁻¹ e, finalmente a 280 °C a 40 °Cmin⁻¹ e mantido em condições isotérmicas por 1,5 min. A espectrometria de massa (EMS) foi operada em modo de varredura completa (faixa de massa m/z 40 a 450). Os dados de CG-MS foram analisados usando LabSolution (GCMS solution Version 4.11 SU2). Os analitos foram identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas, com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos C8-C40 de acordo com Vandendool e Kratz (1963) e, por fim a análise quantitativa foi determinada por porcentagem relativa.

Para extração da fração polar 1 mL de extrato foi acondicionada em um frasco de 2 ml, em seguida, acrescentado 1000 mL de hexano e homogeneizado utilizando ultrassom por 5 min, em seguida, centrifugados a 2000xg por 5 min. Uma alíquota de 0,1mL foi então acondicionada em vial e realizada a derivatização com a adição de 0,1 mL de MSTFA, logo o vial foi acondicionado em banho a 60°C por 40 min. Os analitos foram quantificados e identificados usando um sistema de cromatografia em fase gasosa (CG) (Shimadzu QP2010 UltraPlus, Shimadzu Japão) equipado com um espectrômetro de massas detector de massas (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e coluna capilar Rxi-1MS (30 m × 0,32 mm × 0,25 m, Restek). A temperatura da rampa foi mantida a 70 °C por 2 min, aumentada para 180 °C a 2.5 °Cmin⁻¹ e, finalmente a 230 °C a 10 °Cmin⁻¹ e mantido em condições isotérmicas por 2 min. A espectrometria de massa (MS) foi operada em modo de varredura completa (faixa de massa m/z 35 a 450). Os dados de CG-MS foram analisados usando LabSolution (GCMS solution Version 4.11 SU2). Os analitos foram identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas, com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos C8-C40 de acordo com Vandendool e Kratz (1963) e, por fim a análise quantitativa foi determinada por porcentagem relativa.

3.2.3 Análises espectrofotométricas

3.2.3.1 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante do óleo essencial foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com adaptações. Para a extração dos compostos com atividade antioxidante, peso-se 1 g da amostra em um tubo Falcon de 50 mL, e diluiu-se com 10 mL de metanol. A solução é homogenizada até consistência uni-

forme. Após armazenada por 24 horas em temperaturas de 3 a 4°C, seguido de centrifugação por 15 minutos.

Realizou-se a reação com alíquotas da solução de óleo (3 mL), transferidas para um tubo de ensaio e adicionado 1 mL da solução de DPPH. Os tubos foram mantidos por 60 minutos no escuro. O consumo do DPPH foi realizado a 515 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. O resultado foi expresso em percentual de inibição de acordo com a Equação 3.3

$$\%I = \frac{(A_{branco} - A_{amostra})}{A_{branco}} * 100 \quad (3.3)$$

Onde o 'Abranco' é a leitura em absorvância no espectrofotômetro apenas com metanol e 'Aamostra' a absorvância da amostra.

3.2.3.2 Fenóis totais

A metodologia utilizada foi a de Singleton e Rossi (1965) na qual realizou-se primeiramente um método de extração no qual foi pesado 2 g de amostra, diluindo-se com 20 mL de metanol. Colocou-se em um banho termostático a 25°C, durante 3 horas, filtrando-se o material resultante com algodão para um balão volumétrico de 25 mL, com volume completado com metanol. Após foi realizado o procedimento de quantificação de fenóis totais através de uma reação colorimétrica tomando 1 mL de extrato, adicionando-se 10 mL de água e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu, deixando reagir por 3 minutos, adicionando-se 1,5 mL de carbonato de sódio 20% e com tempo de reação de 2 horas. Realizou-se a leitura de absorvância da amostra em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 765 nm, calibrando o equipamento com metanol. Procedeu-se a elaboração da curva padrão de ácido gálico para quantificação de fenóis. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico.100⁻¹ óleo

$$y = 0,0085x + 0,025 \quad (3.4)$$

3.2.3.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de laranja foi avaliada contra duas bactérias, a gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e a gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Utilizou-se a técnica de Disco-difusão para avaliação da eficácia do óleo essencial frente aos microrganismos, conforme Fontes *et al.* (2022). As culturas bacterianas foram diluídas em água peptonada (0,1%) produzindo uma concentração de 10⁵ UFC/mL, analisada em espectrofotômetro (CLSI, 2015). O inóculo foi espalhado com esfregações esterilizados na superfície da placa de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton. Discos de papel esterilizados (7,5 mm de diâmetro) são colocados sobre a placa e 20 µL de óleo essencial de laranja é adicionado a cada um. Depois, as placas de Petri foram incubados a 35° C. Após 24 h, a presença ou ausência de halos de inibição foi verificado com um paquímetro digital.

A atividade antimicrobiana dos compostos voláteis também foi realizada, com base na técnica descrita por Ghabraie *et al.* (2016). Uma alíquota de 0,1 mL de suspensão de células bacterianas com concentração de 10^5 UFC/mL, foi difundido na superfície das placas de Petri contendo ágar (15 ml - camada de 6 mm). Três discos de papel filtro esterilizados foram colocados na tampa de cada placa de Petri, ao qual 20 μ L de óleo essencial de laranja puro foram adicionados, baseado no estudo de Fontes *et al.* (2022). As placas serão seladas com parafilm, invertidas e incubadas a 37° C durante 24 h. A ação antimicrobiana foi expressa com a porcentagem da redução da UFC após tratamento com óleo essencial de laranja.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises físico-químicas

4.1.1 Avaliação do rendimento, pH e densidade relativa

O óleo essencial é armazenado em glândulas no epicarpo do fruto, portanto, as condições externas, como clima e armazenamento, assim como os fatores durante a extração, influenciam diretamente na obtenção do óleo essencial e nas suas características físico-químicas (SILVA, 2011). Utilizou-se um total de 1868,5 g de casca de laranja moída, obtendo um volume de 33,9 ml de óleo essencial. Os resultados obtido para as análises físico-químicas apresentam-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Análises físico-químicas

| | Rendimento (% v/p) | pH | Densidade relativa (g/ml) |
|---------------------------|--------------------|-------------|---------------------------|
| Óleo essencial de laranja | 1,81 ± 0 | 5,97 ± 0,04 | 0,7244 ± 0 |

Fonte: A autora, 2023

Fernandes *et al.* (2013) realizou um estudo da avaliação do rendimento do óleo essencial de laranja a partir da matéria prima triturada e inteira, obtendo um rendimento de 2,62% (v/p) utilizando 1 kg de casca de laranja triturada. Com o flavedo triturado, obteve-se um volume médio de 26,18 ml, corroborando com o presente trabalho. Além disso, o estudo comprova que a utilização da matéria-prima triturada é mais eficiente no processo de hidrodestilação, fazendo com que aumente a superfície de contato e rompendo as paredes celulares, assim o conteúdo presente no interior das células ficará mais acessível a ação da água. A diferença de rendimento pode se dar devido ao processo de purificação do óleo essencial, que visa a remoção química da porção de água que ainda possa estar presente, tornando o óleo essencial mais concentrado e sem água residual. Segundo Bizzo, Hovell e Rezende (2009), o rendimento máximo de óleo essencial cítrico extraído é 0,4%, sendo assim, o resultado obtido no presente estudo supera o esperado.

Lima, Placedes e Cardoso (2019) avaliaram diferentes tempos de extração do óleo essencial da laranja, encontrando um rendimento de 1,7% e 3% em 8 e 120 minutos de extração, respectivamente. Leão (2015) obteve um rendimento de 2% na extração de óleo essencial de cascas frescas de laranja. Realizando a extração com 40 g de casca de laranja seca, Orso *et al.* (2022) obteve um rendimento de 1,34%. Os resultados consultados na literatura se apresentam próximos ao apresentado no presente estudo, onde a extração foi realizada em 3 horas.

Suzuki (2019) realizou uma análise técnico-econômica e ambiental de processos de valorização do resíduo da indústria de suco de laranja, analisando as rotas de produção de D-limoneno, pectina, biometano e energia e as comparando com a rota convencional de produção de ração animal. A pectina apresenta um maior retorno financeiro, porém também de maior

impacto ambiental. Já a produção de D-limoneno, apresentou a segunda maior receita, sendo de 643,7 milhões ao ano, e tem o menor impacto ambiental dentre os subprodutos analisados. O reaproveitamento do resíduo de laranja das indústrias de sucos são majoritariamente utilizados para ração animal, mas apesar do seu retorno financeiro, os custos de energia para sua produção são significativos. Além disso, este subproduto apresenta um amargor característico sendo pouco atraente para os ruminantes, e podem apresentar baixo teor de proteínas.

O óleo essencial obtido no presente estudo apresenta aspecto homogêneo, líquido, oleoso e translúcido. Possui odor cítrico fortemente presente característico da laranja, estando de acordo com a Farmacopeia Brasileira (BRASILEIRA, 1988).

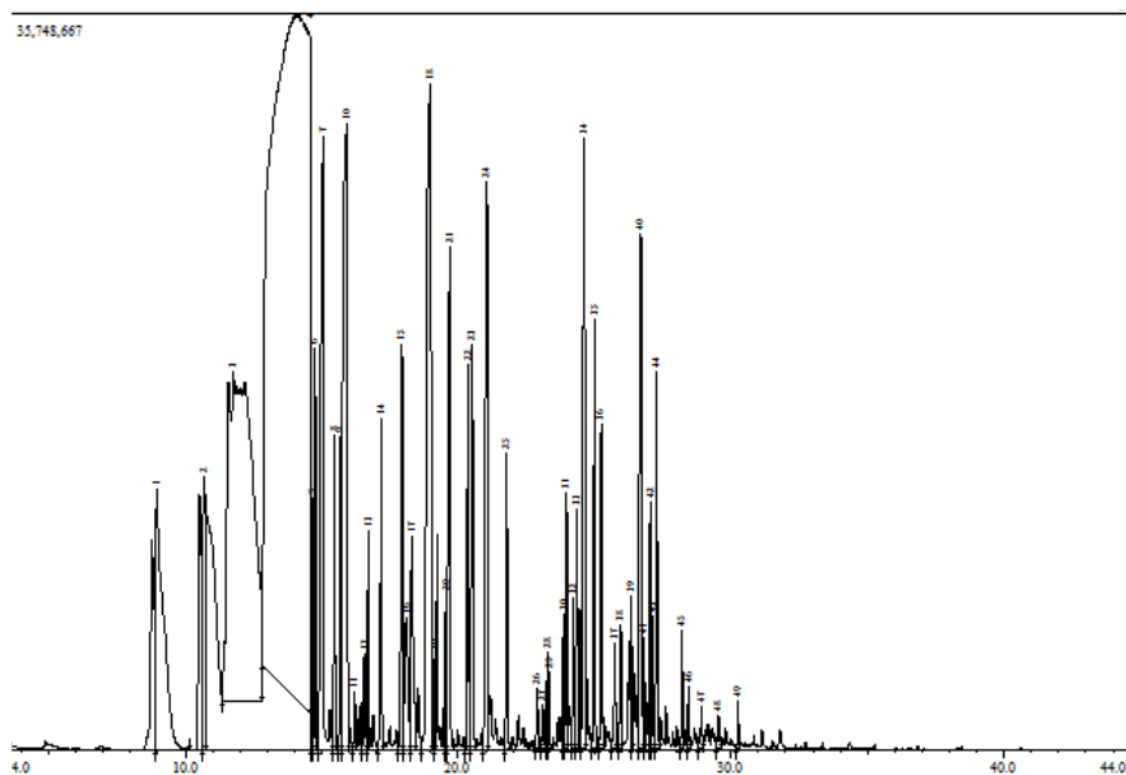
O pH do óleo essencial de laranja obtido é ácido, estando dentro do esperado pois utiliza-se uma matéria-prima cítrica para extração. Lima e Nóbrega (2021) apresentam um pH de 3,92 na extração das cascas de limão tahiti pelo método de Soxhlet, utilizando álcool etílico como solvente. O pH da laranja pera, segundo a literatura, é determinado entre 3 a 3,8 (ACHE; RIBEIRO, 1950).

A densidade relativa determinada por picnometria foi menor quando comparada a encontrada por Lima, Placedes e Cardoso (2019), que obteve 0,8356 g/ml ao determinar a densidade a 20°C utilizando um balão volumétrico. No presente estudo, a densidade relativa foi determinada a 25°C. De acordo com informações de óleos essenciais de laranja comerciais, a densidade varia entre 0,8500 e 0,8850 g/ml (YSC, 2022). A densidade do limoneno a 20°C é 0,856 g/ml, o principal composto presente no óleo essencial (SIGMA-ALDRICH, 2022).

4.1.2 Análise Cromatográfica por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas (CG-MS)

Através da análise cromatográfica dos compostos voláteis do óleo essencial da laranja, pode-se identificar 49 componentes (anexo B - Tabela 9). O cromatograma dos compostos voláteis obtido apresenta os componentes voláteis majoritários e minoritários do óleo essencial de laranja, podendo ser observados na Figura 8.

Figura 8 – Cromatograma dos compostos orgânicos voláteis



Fonte: A autora, 2023

A partir dos 49 componentes voláteis identificados, na Tabela 6, destaca-se os 20 principais componentes que se encontram em maior concentração no óleo essencial de laranja pera.

Tabela 6 – Principais compostos orgânicos voláteis do óleo essencial da laranja

| Pico | Componentes Orgânicos Voláteis | IS | IRL | IRLexp | Quantificação (ug/ml) |
|------|--------------------------------|----|------|--------|-----------------------|
| 1 | alfa-pineno | 96 | 948 | 928 | 0,37 |
| 2 | beta-felandreno | 94 | 964 | 966 | 0,14 |
| 3 | beta-mirceno | 90 | 958 | 989 | 1,44 |
| 4 | D-Limoneno | 95 | 1018 | 1048 | 4,49 |
| 7 | 1-Octanol | 96 | 1059 | 1074 | 0,33 |
| 10 | beta-Linalool | 95 | 1082 | 1098 | 0,49 |
| 14 | Citronelal | 97 | 1125 | 1136 | 0,08 |
| 15 | 4-Terpineol | 96 | 1137 | 1160 | 0,12 |
| 16 | 1-Nonanol | 95 | 1159 | 1164 | 0,08 |
| 17 | alpha-Terpineol | 94 | 1143 | 1171 | 0,10 |
| 18 | Decanal | 94 | 1204 | 1193 | 0,50 |
| 21 | beta-Citronelol | 91 | 1179 | 1215 | 0,18 |
| 22 | trans,cis-2,6-Nonadien-1-ol | 85 | 1175 | 1239 | 0,10 |
| 23 | alpha-Citral | 95 | 1174 | 1245 | 0,12 |
| 24 | 1-Decanol | 98 | 1258 | 1263 | 0,22 |
| 33 | beta-Elemene | 92 | 1398 | 1382 | 0,08 |
| 34 | Dodecanal | 96 | 1402 | 1392 | 0,22 |
| 35 | Cariofileno | 96 | 1494 | 1406 | 0,10 |
| 40 | Valenceno | 96 | 1474 | 1481 | 0,22 |
| 44 | beta-Cadinenos | 93 | 1440 | 1508 | 0,09 |

IS: índice de similaridade da literatura NIST11. IRL: índices de retenção da literatura NIST11.

IRL exp: índices de retenção experimental

Fonte: A autora, 2023

Os principais compostos identificados no óleo essencial de laranja foram os monoterpenos alfa-limoneno (4,49 µg/ml) e beta-mirceno (1,44 µg/ml). Seguidos dos compostos decanal (0,5 µg/ml), beta-linalol (0,49 µg/ml) e alfa-pineno (0,37 µg/ml). O cromatograma apresentado na Figura 8 confirma a alta concentração de limoneno encontrada, apontada no pico 4, onde mostra que o tempo de retenção deste composto na coluna foi maior, portanto, apresenta maior concentração. Assim como no pico 3, onde tem-se uma curva mais larga, também com maior tempo de retenção do composto beta-mirceno. Confirmando o encontrado por Assunção (2013), onde o componente majoritário do óleo essencial de laranja, também foi o Limoneno, seguido do Linalol e do beta-mirceno.

Simas *et al.* (2015) analisou uma variedade de 15 óleos essenciais cítricos, incluindo a laranja pera (*Citrus Sinensis L.Osbeck*), e o limoneno foi a substância majoritária em todas as amostras analisadas, variando de 96,5% a 43,52%. Everton *et al.* (2020) encontrou 81,5% do composto limoneno no óleo essencial de laranja doce, seguido de linalol (6,36%) e do beta-mirceno (2,95%). O limoneno é característico pelo seu aroma cítrico, sendo utilizado como aditivos em alimentos, bebidas e gomas de mascar (SIMAS *et al.*, 2015).

O teor de limoneno presente no óleo essencial de laranja pode variar de acordo com a

origem da fruta. Cheng e Chou (1984) encontrou 68,51% de limoneno em Taiwan, na Índia, o percentual encontrado foi de 84,20% (SHARMA; TRIPATHI, 2008), já na Indonésia foi de 95,60% (DHARMAWAN; KASAPIS; CURRAN, 2008). No presente estudo, foi encontrado 84,4% de limoneno, identificado na fração polar do óleo essencial de laranja (anexo C - Tabela 10). A localização geográfica influencia diretamente o desenvolvimento de metabólitos secundários, pois as diferentes características do solo e clima fazem com que a planta se adapte de uma maneira diferente. Além disso, fatores como a sazonalidade, biotipo, condições de cultivo, interação com o ambiente e atração de polinizadores, influenciam nas diferentes concentrações dos componentes majoritários da laranja (ASSUNÇÃO, 2013).

O monoterpeno limoneno é utilizado em diversas aplicações, como por exemplo: agente dispersante de óleos, solventes para resinas, fabricação de borrachas e tintas, e também como reagente de base da indústria química para síntese de compostos de estruturas semelhantes. Este composto está muito presente indústria química, por ser ambientalmente seguro e ter poder inseticida, é muito utilizado em produtos de limpeza doméstico e industriais. Além disso, na indústria farmacêutica é utilizado como princípio ativo, pois possui baixa toxicidade a saúde humana. Tem sido utilizado como solvente do colesterol e na neutralização do ácido gástrico (PIRES; RIBEIRO; MACHADO, 2018).

Os óleos essenciais são produtos complexos com diferentes substâncias, portanto, é incerto afirmar que apenas um composto é responsável pela atividade antimicrobiana de um óleo essencial. Os compostos presentes podem apresentar melhor efetividade juntos ou separados, assim como as condições de extração interferem também na sua atividade. O limoneno possui uma ótima atividade antimicrobiana, Hac-Wydro, Flasiński e Romanczuk (2017) analisaram diferentes concentrações do composto na aplicação em um modelo de membrana bacteriana, para possível utilização como bioconservante. Observou-se que o composto tem capacidade de interação com o sistema lipídico, e assim alterar as características da membrana. Porém, o fator temperatura foi o mais importante, demonstrando que em temperaturas mais baixas, há maior interação do composto com a membrana, pois em temperaturas mais elevadas pode ocasionar a evaporação do composto, devido a sua volatilidade, afetando sua capacidade antimicrobiana.

Com relação aos outros compostos, o composto mirceno foi identificado em 14,8% na fração apolar do óleo essencial (anexo C - Tabela 11). Resultado maior quando comparado com Camara (2009), que encontrou 5,7% do componente no óleo essencial da laranja pera, utilizando a mesma polaridade na coluna cromatográfica. O composto alfa-pipeno também foi menor no estudo do autor, apresentado 1,5%. Em contra partida, a concentração de limoneno apresentada por Camara (2009) foi de 86,1%, sendo maior do que a analisada pela fração apolar no presente estudo, que foi de 51,05%.

4.2 Análises espectrofotométricas

4.2.1 Atividade antioxidante por DPPH e compostos fenólicos

Os antioxidantes naturais apresentam potencial para aplicação como conservante naturais em alimentos, e os compostos fenólicos exibem grande efeito atribuído a sua ação antioxidante (COSTA, 2015). Os resultados encontrados para a atividade antioxidante e compostos fenólicos do óleo essencial de laranja estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Análises espectrofotométricas

| | Atividade Antioxidante (%) | Fenóis (mg de ácido gálico.100g ⁻¹) |
|---------------------------|----------------------------|---|
| Óleo essencial de laranja | 3,43 ± 0,65 | 437,51 ± 24,6 |

Fonte: A autora, 2023

A concentração de compostos fenólicos no óleo essencial do presente estudo foi mais elevado quando comparado com Costa (2015), que encontrou $9,9 \times 10^{-5}$ mg EAG mg⁻¹ no óleo essencial de laranja doce. A análise dos compostos fenólicos tem influencia devido a estrutura química da amostra e o método de extração utilizado, além disso, o tempo, condições de armazenamento e presença de componentes interferentes influenciam diretamente na atividade antioxidante (COSTA, 2015). Os compostos fenólicos dividem-se em flavonóides e não flavonóides e são metabólicos secundários, desempenhando na planta um mecanismo de defesa no meio ambiente, tendo uma boa resposta na inibição de microrganismos. Assim como os compostos fenólicos, os terpenos e alcalóides, também fazem parte dos metabólicos secundários (ROCHA, 2013).

Os compostos fenólicos possuem ação antioxidante, que retardam ou previnem o processo de oxidação, sendo muito utilizado pela indústria alimentícia, pois a oxidação dos lipídios nos alimentos formam compostos indesejáveis, além de sabores e odores desagradáveis. O método do radical DPPH é utilizado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres. O radical DPPH, de coloração violeta, é reduzido na presença de um antioxidante com a doação de um radical hidrogênio ou um elétron, obtendo uma coloração amarelada. A medida em que ocorre a redução do radical livre, a absorvância da solução diminui (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

No presente estudo, observou-se um baixo percentual de atividade antioxidante, que não era esperado em função do alto conteúdo de compostos fenólicos encontrados. Este fator pode ser devido ao tipo de método utilizado, pois há uma baixa solubilidade do óleo essencial e seus compostos frente ao método DPPH. Os fenóis são antioxidantes eficientes presentes nos óleos essenciais. O geraniol, por exemplo, composto presente no óleo essencial estudado, é um álcool considerado como a segunda classe dos monoterpenos oxigenados mais ativos em relação a atividade antioxidante (RUBERTO; BARATTA, 2000).

Andrade *et al.* (2012) realizou a análise da atividade antioxidante de óleos essenciais através de dois métodos diferentes, pelo sequestro de DPPH e pelo método de beta-caroteno/ácido linoleico. Segundo a autora, o segundo método apresentou melhores resultados, apresentando-se extremamente útil para investigações de antioxidantes lipofílicos, sendo apropriado para óleos essenciais. As condições do experimento do método de sequestro do radical DPPH, oferecem baixa solubilidade ao óleo essencial e seus compostos, tornando-se um método mais efetivo em compostos hidrofílicos. A concentração de compostos fenólicos e sua atividade antioxidante são relacionadas com a capacidade de extração em função do grau de polaridade do solvente e da relação soluto-solvente (SIMONETTI *et al.*, 2016).

A falta de atividade antioxidante significativa pode ser justificada quando o óleo essencial apresenta baixo teor dos compostos responsáveis por capturar radicais livres, como foi visto também por Santos *et al.* (2016), no óleo essencial de tangerina. A autora também encontrou valores baixos da atividade antioxidante dos óleos essenciais de laranja doce e maracujá, com o método DPPH. A atividade antioxidante ocorre através de diversos mecanismos, sendo um processo muito complexo e de difícil determinação. Devido a sua complexidade, torna-se necessário a realização de mais de um método ao analisar um composto (MATA *et al.*, 2007).

4.2.2 Atividade antimicrobiana

A capacidade antimicrobiana do óleo essencial da laranja foi testada frente a duas bactérias, a gram-positiva *Staphylococcus aureus* e a gram-negativa *Escherichia coli*, os resultados estão apontados na Tabela 8.

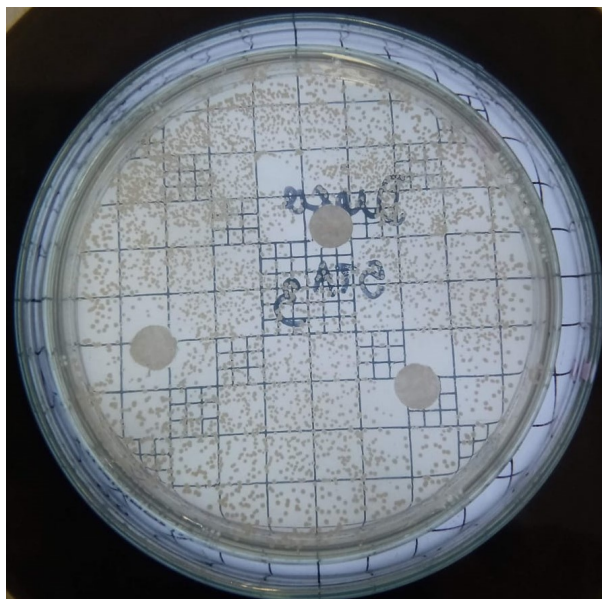
Tabela 8 – Halos de inibição e Unidades Formadoras de Colônia contendo 20 µL de óleo essencial de laranja

| Bactéria | Difusão em disco (mm) | Compostos Voláteis |
|------------------------------|-----------------------|--------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 15,74 ± 0,63 | Incontáveis |
| <i>Escherichia coli</i> | Incontáveis | 275 UFC |

Fonte: A autora, 2023

Na análise de difusão em disco, o óleo essencial de laranja apresentou atividade contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, quando que contra a bactéria gram-negativa não houve inibição visível. Corroborando com o estudo feito por Heberle *et al.* (2016), que avaliou a atividade antimicrobiana do óleo essencial da laranja através da técnica de difusão em disco, havendo uma resposta positiva frente a todas as bactérias gram-positivas testadas, sendo elas *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*. Além disso, as bactérias gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* não apresentaram resposta positiva frente ao óleo essencial estudado. Na Figura 9, pode-se observar os halos de inibição formados em torno dos discos de papel utilizados com óleo essencial de laranja, através do método de disco-difusão.

Figura 9 – Halos de inibição por disco-difusão da bactéria *Staphylococcus aureus*



Fonte: A autora, 2023

Os componentes fenólicos nos óleos essenciais são reconhecidos como componentes bioativos com ótima atividade antimicrobiana, e podem ser utilizados evitando o crescimento de microrganismos patogênicos em alimentos. Nos óleos essenciais cítricos, o principal componente responsável por sua atividade antimicrobiana é o limoneno. Porém, torna-se necessário a utilização da concentração mais elevada deste tipo de óleo essencial, podendo implicar no aspecto sensorial do alimento (VELÁZQUEZ-NUÑEZ *et al.*, 2013).

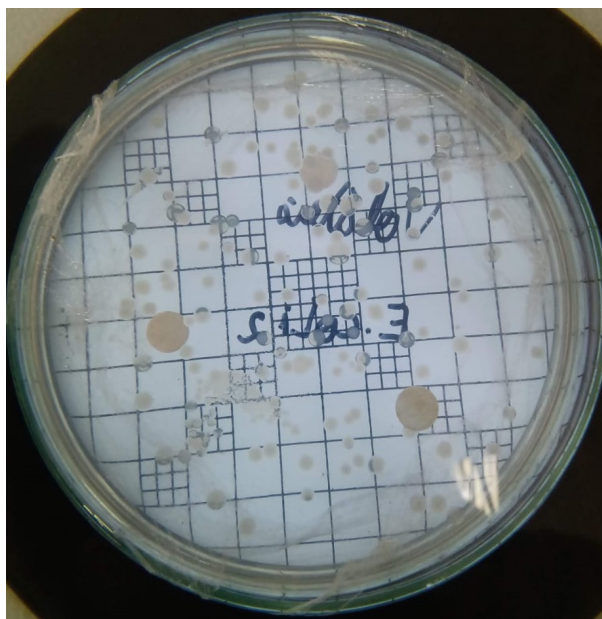
A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais se dá devido a sua capacidade de penetrar nas membranas bacterianas intracelulares e exercer um efeito inibitório nas propriedades funcionais das células, bem como em suas propriedades lipofílicas. Os compostos fenólicos presentes induzem uma resposta antimicrobiana contra bactérias patogênicas, rompendo a membrana celular e interferindo nas propriedades funcionais da célula. Os mecanismos de ação podem estar relacionados à capacidade destes compostos em alterar a permeabilidade das células microbianas, danificar as membranas citoplasmáticas e interromper o sistema de produção de energia celular, causando a morte celular (BAJPAI; BAEK; KANG, 2012).

Devido a sua hidrofobicidade, os óleos essenciais separam os lipídios da membrana da célula bacteriana e mitocôndrias, fazendo com que a célula bacteriana se torne mais permeável. Os óleos essenciais são mais eficazes contra bactérias gram-positivas devido a interação direta da membrana celular com componentes hidrofóbicos dos óleos. No entanto, as bactérias gram-negativas se tornam mais resistentes contra os óleos de origem vegetal pois possuem uma parede celular hidrofílica, bloqueando a penetração de componentes hidrofóbicos, como o óleo essencial (CALO *et al.*, 2015).

Dannenberg (2017) realizou a análise antimicrobiana do óleo essencial de pimenta rosa

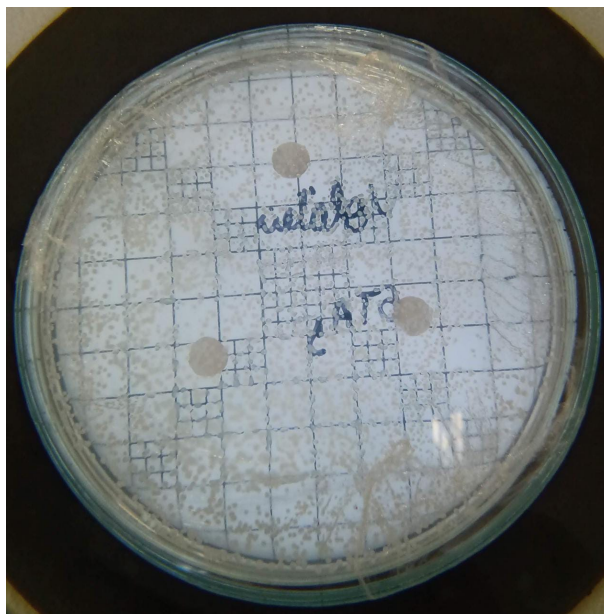
(*Schinus terebinthifolius RADDI*), havendo inibição em todas as bactérias gram-positivas testadas, e em duas das quatro bactérias gram-negativas avaliadas, pelo teste de disco-difusão. O autor também realizou o teste de compostos voláteis em micro-atmosfera, verificando presença da atividade antimicrobiana do óleo contra a bactéria gram-negativa *E. coli*, o que não ocorreu nas análises em disco-difusão, assim como o presente estudo. O caráter apolar dos óleos essenciais dificulta sua difusão em alguns meios, portanto, a análise microbiana dos compostos voláteis pode apresentar resultados diferentes de outros métodos, pois o óleo entra em contato com as células microbianas por volatilização (GHABRAIE *et al.*, 2016). Por conta desta característica, os óleos essenciais apresentam potencial para serem utilizados como antimicrobianos sem aplicação direta, como por exemplo, em sachês adicionados a embalagens, controlando o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (DANNENBERG, 2017). Na Figura 10, podemos observar a ação efetiva da volatilização do óleo essencial da laranja e inibição do crescimento da bactéria gram-negativa *E. coli*, quando comparada a ação do óleo frente a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (Figura 11).

Figura 10 – Análise dos voláteis frente a bactéria *Escherichia coli*



Fonte: A autora, 2023

Figura 11 – Análise dos voláteis frente a bactéria *Staphylococcus aureus*



Fonte: A autora, 2023

5 CONCLUSÃO

Realizou-se a extração do óleo essencial da casca laranja por hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger e obtendo um rendimento de 1,81%. Através das análises físico-químicas realizadas foi possível analisar o padrão do óleo essencial obtido, apresentando aspecto homogêneo, líquido, oleoso, translúcido e com pH ácido, de acordo com o encontrado pela literatura estudada.

Através do presente estudo, foi possível identificar 49 compostos voláteis presentes no óleo essencial de laranja pera, assim como, quantificar os metabólitos secundários presentes na sua composição. Os componentes majoritários corroboraram com os resultados encontrados na literatura, sendo que o Limoneno é o composto de maior concentração.

A atividade antioxidante encontrada foi baixa quando comparada a literatura, porém, os compostos fenólicos obtidos foram representativos. Os compostos fenólicos são agentes de defesa das plantas e são componentes bioativos responsáveis por conferir cor, aroma e sabor em alimentos, além disso possui ótima atividade antimicrobiana. Portanto, é necessário a avaliação da atividade antioxidante por outro método, para assim ter uma melhor conclusão do poder antioxidante do óleo essencial da laranja.

Os resultados apresentaram que o óleo obtido possui atividade antimicrobiana significativa frente aos microrganismos testados. Na análise dos componentes voláteis, o óleo essencial da casca de laranja apresentou inibição contra o microrganismo gram-negativo *Escherichia coli*, devido ao contato com as células microbianas por volatilização. Contra o microrganismo gram-positivo *Staphylococcus aureus*, o óleo essencial testado demonstrou inibição com o teste disco-difusão, apresentando um halo de inibição significativo, de acordo com óleos essenciais encontrados na literatura. O composto Limoneno encontrado no óleo essencial de laranja apresenta potencial antimicrobiano e pode ter sido o principal composto responsável pela atividade antimicrobiana obtida, porém, torna-se necessário a análise microbiológica deste componente, para descobrir se há influência de outros compostos que interferem nesta atividade. O óleo essencial da laranja possui características para possível aplicação como conservante natural em alimentos, devido as suas propriedades antimicrobianas e alta atividade de compostos fenólicos presente, sendo um subproduto de alto valor agregado com influência na economia brasileira.

REFERÊNCIAS

- ABECITRUS. **Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos Abecitruss**. 2009. Disponível em: <<https://www.abecitrus.com.br/sobre/>>. Acesso em: 16 de maio de 2022.
- ACHE, L.; RIBEIRO, I. F. O ph de frutas nacionais. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo**, v. 4, n. 2, p. 267–270, dez. 1950. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/rfmvusp/article/view/62423>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, n. 11, p. 1902–1903, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.07.008>>. Acesso em: 14 de janeiro de 2023.
- ALEXANDRINO, A. M. *et al.* Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *pleurotus ostreatus* (jack:fr). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 364–368, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/qNtCfR3rNx8h4WCSKsBgJxp/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 02 de janeiro de 2023.
- ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *cymbopogon nardus*, *cinnamomum zeylanicum* e *zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399–408, 2012. ISSN 1806-6690. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rca/a/BwBhC5BshjJswWT3VW4Wfnc/>>. Acesso em: 12 de janeiro de 2023.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2007. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 2, DE 15 DE JANEIRO DE 2007, dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de janeiro. Disponível em: <<https://central3.to.gov.br/arquivo/281221/>>. Acesso em: 14 de maio de 2022.
- ASBAHANI, A. E. *et al.* Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, Elsevier BV, v. 483, n. 1-2, p. 220–243, abr. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25683145/>>. Acesso em: 16 de junho de 2022.
- ASSUNÇÃO, G. V. de. **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE ao *Aedes aegypti* do ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE *Citrus sinensis* L. Osbeck (LARANJA DOCE)**. 2013. Universidade Federal do Maranhão - São Luís - MA. Disponível em: <<https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/954#preview-link0>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.
- BAIK, J. S. *et al.* Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from korean endemic citrus species. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 74–79, jan. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18239420/>>. Acesso em: 03 de julho de 2022.
- BAJPAI, V. K.; BAEK, K.-H.; KANG, S. C. Control of salmonella in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 722–734, 2012. ISSN 0963-9969. Salmonella in Foods: Evolution, Strategies and Challenges. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911002912>>. Acesso em: 20 de maio de 2022.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008. ISSN 0278-6915. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

BICCHI, C.; DRIGO, S.; RUBIOLO, P. Influence of fibre coating in headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic analysis of aromatic and medicinal plants. **J Chromatogr A**, Netherlands, v. 892, n. 1-2, p. 469–485, set. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11045505/>. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009. ISSN 1678-7064. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/QwJBsdNzGmZSq4jKmhVdNj/#>. Acesso em: 15 de junho de 2022.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. ISSN 0023-6438. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 12 de julho de 2022.

BRANT, F. das G. C. **TESTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (CITRUS SINENSIS) ENCAPSULADO EM LEVEDURAS PARA O CONTROLE DA POPULAÇÃO DE AEDES AEGYPTI EM BELO HORIZONTE - MG.** 2019. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/39505>. Acesso em: 13 de dezembro de 2022.

BRASIL. **Resolução RDC nº2, de 15 de janeiro de 2007.** 2007. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-2-de-15-de-janeiro-de-2007.pdf/view>. Acesso em: 09 de julho de 2022.

BRASILEIRA, F. **Farmacopéia Brasileira.** São Paulo: Atheneu, 1988. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8036json-file-1>. Acesso em: 12 de julho de 2022.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004. ISSN 0168-1605. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>. Acesso em: 14 de junho de 2022.

BUSATO, N. V. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1574–1582, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/gvHbsFT68gFVPfBksDYYhnL/abstract/?lang=pt#>. Acesso em: 23 de junho de 2022.

CALO, J. R. *et al.* Essential oils as antimicrobials in food systems – a review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015. ISSN 0956-7135. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515000456>. Acesso em: 13 de janeiro de 2023.

CAMARA, C. A. G. da. **A Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais de frutas cítricas.** 2009. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/6325>. Acesso em: 22 de janeiro de 2023.

CHENG, Y. chia; CHOU, C.-T. Composition of peel essential oils from eight citrus species. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 31, n. 1, p. 93–96, 1984. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jccs.198400012>. Acesso em: 22 de janeiro de 2023.

CITRUBR. **Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos**. 2009. Disponível em: <https://citrusbr.com>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

CLEVENGER, J. Apparatus for the determination of volatile oil*. **The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912)**, v. 17, n. 4, p. 345–349, 1928. ISSN 0898-140X. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898140X15365782>. Acesso em: 25 de julho 2022.

CLSI. **M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 2015. Approved Standard—Tenth Edition. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Disponível em: https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

CORADINI, C. *et al.* Efeito de óleo essencial de laranja associados a fungicidas no controle de doenças foliares do trigo. **Summa Phytopathologica**, SciELO Brasil, v. 42, p. 105–106, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/5FrZhD3tYwzSbp5wcCGVKxq/abstract/?lang=pt#>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

COSTA, M. de Jesus Ribeiro da. **Determinação da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais em óleos essenciais**. 2015. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo - PR. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/15866>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

DAMASCENO, F. C. **Microextração em fase sólida no modo headspace aplicada ao estudo de substâncias voláteis de plantas infestadas por galhas foliares entomógenas**. 2007. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/11832>. Acesso em: 30 de janeiro de 2023.

DANNENBERG, G. da S. **Óleo essencial de pimenta rosa (Schinus terebinthifolius RADDI): atividade antimicrobiana e aplicação como componente ativo em filme para bioconservação de alimentos**. 2017. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/3666>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

DANNENBERG, G. da S. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius raddi*) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, v. 36, p. 120–127, 2016. ISSN 1466-8564. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146685641630114X>. Acesso em: 09 de julho de 2022.

DHARMAWAN, J.; KASAPIS, S.; CURRAN, P. Characterization of volatile compounds in selected citrus fruits from Asia—part ii: Peel oil. **Journal of Essential Oil Research**, Taylor and Francis, v. 20, n. 1, p. 21–24, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699411>. Acesso em: 22 de janeiro de 2023.

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. de. **Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI,

2018. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201805/15144652-citricultura-do-rio-grande-do-sul-indicacoes-tecnicas-efrom-souza.pdf>). Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

EVERTON, G. O. *et al.* Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da pimenta dioica L. (pimenta da jamaica) e citrus sinensis L. osbeck (laranja doce). **Revista colombiana de ciencias químico-farmacêuticas**, v. 43, p. 641–655, 2020. Disponível em: <http://192.168.0.209:8080/jspui/handle/prefix/259>). Acesso em: 13 de dezembro de 2022.

FAZIO, M. L. S. *et al.* **AÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LARANJA 5F, LARANJA 10F, LIMÃO SICILIANO E MANDARINA VERDE**. [s.n.], 2018. Disponível em: <https://www.fafica.br/revista/index.php/interciencia/article/view/4/2>). Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120–130, 2017. Disponível em: http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc39_2/04-QS-09-16.pdf). Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

FERNANDES, I. J. *et al.* **Avaliação da Extração de Óleo Essencial do Resíduo Casca de Laranja**. 2013. Fórum Internacional de Resíduos Sólidos - Porto Alegre - RS. Disponível em: <http://www.institutoventuri.org.br/ojs/index.php/firs/article/view/558>). Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

FERRARINI, S. R. *et al.* Synthesis of limonene β -amino alcohol derivatives in support of new antileishmanial therapies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, SciELO Brasil, v. 103, p. 773–777, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/3j8KMf3prBFqYffSxVGfGfGFK/?lang=en>). Acesso em: 30 de junho de 2022.

FERRONATTO, A.; ROSSI, R. **Extração e aplicação do óleo essencial da casca da laranja como ingrediente natural**. 2017. 12 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, Campinas - SP. Disponível em: <https://proceedings.science/slaca/slaca-2017/papers/extracao-e-aplicacao-do-oleo-essencial-da-casca-da-laranja-como-ingrediente-natural?lang=pt-br>). Acesso em: 03 de julho de 2022.

FONTES, M. R. V. **Fibras ultrafinas produzidas a partir de poli (ácido láctico), lignina e óleo essencial de pimenta rosa (Schinus terebinthifolius Raddi) sobrepostas em filmes de amido para aplicação em embalagens de alimentos**. 2021. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/8000?locale=en>). Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

FONTES, M. R. V. *et al.* Antimicrobial properties of pla membranes loaded with pink pepper (schinus terebinthifolius raddi) essential oil applied in simulated cream cheese packaging. **Food Biophysics**, Jul 2022. ISSN 1557-1866. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11483-022-09750-x>). Acesso em: 14 de julho de 2022.

GARZON, C. G.; HOURS, R. A. Citrus waste: An alternative substrate for pectinase production in solid-state culture. **Bioresource Technology**, v. 39, n. 1, p. 93–95, 1992. ISSN 0960-8524. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0960852492900612>). Acesso em: 02 de janeiro de 2023.

GHABRAIE, M. *et al.* Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 332–339, 2016. ISSN 0023-6438. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815302735>. Acesso em: 14 de julho de 2022.

GHANIM, H. *et al.* Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, n. 4, p. 940–949, 2010. ISSN 1383-5718. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844681/>. Acesso em: 10 de junho de 2022.

GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE)**. 2003. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/3145>. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

GOMES, P. R. B. *et al.* Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*syzygiumaromaticum*). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 47, p. 7–52, 2018. Disponível em: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/70657/66235>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

HAC-WYDRO, K.; FLASINSKI, M.; ROMANCZUK, K. Essential oils as food eco-preservatives: Model system studies on the effect of temperature on limonene antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 235, p. 127–135, 2017. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617308427>. Acesso em: 22 de janeiro de 2023.

HEBERLE, T. *et al.* **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA**. 2016. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: a árvore da vida - Gramado - RS. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1065713/1/CBCTA258.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2022.

HERNÁNDEZ-OCHOA, L. *et al.* Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. **Journal of Food Science and Technology**, Springer Science and Business Media LLC, v. 51, n. 5, p. 957–963, maio 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4008757/>. Acesso em: 01 de julho de 2022.

HIGASHIMOTO, M. *et al.* Inhibitory effects of citrus fruits on the mutagenicity of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro--carboline-3-carboxylic acid treated with nitrite in the presence of ethanol. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 415, n. 3, p. 219–226, 1998. ISSN 1383-5718. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571898000795>. Acesso em: 10 de junho de 2022.

HOROWITZ, R. M.; GENTILI, B. Taste and structure in phenolic glycosides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 696–700, 1969. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf60164a049>. Acesso em: 23 de junho de 2022.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Produção Agrícola - Lavoura Permanente**. 2020. São Paulo. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/pesquisa/15/0>. Acesso em: 14 de maio de 2022.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Produção de Laranja**. 2021. São Paulo. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/laranja/br>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

KHAN, M. K. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 851–858, 2010. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609010437>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

KRINGEL, D. H. **Encapsulação do óleo essencial de laranja em β -ciclodextrina: Ação antifúngica e aplicação em bolos**. 2019. Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://repositorio.ufpel.edu.br:8080/bitstream/prefix/4527/1/TESE\%20final-Dianini.pdf>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

KRINGEL, D. H. *et al.* Production, characterization, and stability of orange or eucalyptus essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 11, p. 2598–2605, nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29083485/>. Acesso em: 01 de julho de 2022.

LEITE, M. P. *et al.* Behavioral effects of essential oil of citrus aurantium L. inhalation in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, SciELO Brasil, v. 18, p. 661–666, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/pVJkfTjQR64fDz4qVpMf8t/?lang=en>. Acesso em: 01 de julho de 2022.

LEÃO, M. **Análise do óleo essencial da laranja doce *Citrus sinensis* (L.) Osbeck obtido das cascas secas e frescas através do método de extração por hidrodestilação**. 2015. Universidade de Santa Cruz do Sul - RS. Disponível em: <https://repositorio.unisc.br/jspui/handle/11624/1015>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

LIMA, F. B. de; PLACEDES, J.; CARDOSO, C. R. Avaliação do rendimento de hidrodestilação para a produção de óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v. 4, p. 257–266, 2019. ISSN 2359-4748. Disponível em: <https://seer.uftm.edu.br/revistaeletronica/index.php/rbcti/article/view/3728>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

LIMA, N. P. de; NÓBREGA, G. A. S. da. **EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS E CASCAS DO LIMÃO TAHITI (*CITRUS AURANTIFOLIA*) PARA PRODUÇÃO DE SANEANTES**. 2021. Universidade Federal Rural do Semiárido. Disponível em: https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/6556/1/Nat\%C3\%A1liaPL_ART.pdf. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

LORD, H.; PAWLISZYN, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1, p. 153–193, 2000. ISSN 0021-9673. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300005355>. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas,

Brasil. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/416951?guid=1654547320123&returnUrl=%2fresultado%2fflistar%3fguid%3d1654547320123%26quantidadePaginas%3d1%26codigoRegistro%3d416951%23416951&i=1>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

MARTÍN, M. *et al.* Biomethanization of orange peel waste. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20655741/>. Acesso em: 12 de junho de 2022.

MATA, A. *et al.* Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as portuguese food spices. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 778–786, 2007. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606007369>. Acesso em: 12 de janeiro de 2023.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. *et al.* The complex carotenoid pattern of orange juices from concentrate. **Food Chemistry**, v. 109, n. 3, p. 546–553, 2008. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608000551>. Acesso em: 20 de maio de 2022.

MENDEZ, M. T. A. y Clemente Granados Conde y G. L. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de eucalyptus globulus labill. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 52, n. 1, 2019. ISSN 1561-2988. Disponível em: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/266>. Acesso em: 14 de julho de 2022.

MORAES, T. M. *et al.* Effects of limonene and essential oil from citrus aurantium on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion. **Chemico-Biological Interactions.**, Elsevier BV, v. 180, n. 3, p. 499–505, ago. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19410566/>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

NEVES, J. S. **Aromaterapia : um tema para o ensino de química**. 2011. Universidade de Brasília, Brasília. Disponível em: <https://bdm.unb.br/handle/10483/1728>. Acesso em: 25 de junho de 2022.

NEVES, M. F. **O retrato da citricultura brasileira**. 2011. São Paulo: CitrusBR. Disponível em: <https://citrusbr.com/biblioteca/publicacoes-citrusbr/>. Acesso em: 13 de junho de 2022.

ORSO, V. T. *et al.* Attainment and characterization of orange essential oil obtained from residues of citrus sinensis 'valencia'. **Research, Society and Development**, v. 11, p. e34211931876, 2022. ISSN 2525-3409. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/31876>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli o157:h7, salmonella typhimurium, staphylococcus aureus and listeria monocytogenes. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414–420, 2007. ISSN 0956-7135. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505002872>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

PENDLETON, S. J. *et al.* Inhibition of beef isolates of e. coli O157:H7 by orange oil at various temperatures. **Journal of Food Science**, Wiley, v. 77, n. 6, p. M308–11, jun. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22583064/>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

PENG, L.-W. *et al.* Effect of heat treatments on the essential oils of kumquat (*fortunella margarita swingle*). **Food Chemistry**, Elsevier BV, v. 136, n. 2, p. 532–537, jan. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23122094/>. Acesso em: 22 de junho de 2022.

PIRES, T. C. M.; RIBEIRO, M. G. T. C.; MACHADO, A. A. S. C. Extração do r-(+)-limoneno a partir das cascas de laranja: Avaliação e otimização da verduza dos processos de extração tradicionais. **Química Nova**, v. 41, n. 03, p. 355–365, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/gcqrQGBcs5JZfQrD4KtKKYM/?lang=pt>. Acesso em: 17 de janeiro de 2023.

PORTO, C. da; DECORTI, D.; KIKIC, I. Flavour compounds of *lavandula angustifolia* l. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 1072–1078, 2009. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608008340>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

RAIMUNDO, M. G. M. **Manual de Citros**. Coordenadoria de Desenvolvimento dos Agronegócios, São Paulo, 2018. Disponível em: http://www.codeagro.sp.gov.br/uploads/publicacoes/Cesans/Manual_Citros_2016.pdf. Acesso em: 10 de junho de 2022.

REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 4, p. 606–614, 2012. ISSN 0960-3085. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096030851200051X>. Acesso em: 12 de junho de 2022.

RIVAS, B. *et al.* Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, United States, v. 56, n. 7, p. 2380–2387, mar. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18321055/>. Acesso em: 16 de junho de 2022.

ROCHA, B. C. A. da. **Extração e caracterização do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)**. 2013. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/handle/jspui/3478>. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 167–174, 2000. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814699002472>. Acesso em: 21 de janeiro de 2023.

SÁEZ-LLORENS, X. *et al.* Impact of an antibiotic restriction policy on hospital expenditures and bacterial susceptibilities: a lesson from a pediatric institution in a developing country. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health), v. 19, n. 3, p. 200–206, mar. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10749459/>. Acesso em: 09 de julho de 2022.

SALIBE, A. A.; SOBRINHO, J. T.; MULLER, G. W. Sinopse de conhecimentos e pesquisas sobre a laranja ‘pêra’. **LARANJA**, Cordeirópolis, v. 23, n. 1, p. 231–245, 2002. Disponível em: <http://host-article-assets.s3.amazonaws.com/citrusrt/59afd21e0e8825e625dde272/fulltext.pdf>. Acesso em: 10 de junho de 2022.

SANTANA, M. de Fatima Simplicio de. **Caracterização físico-química de fibra alimentar de laranja e maracuja**. 2005. Tese (doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1600190>. Acesso em: 14 de junho de 2022.

SANTOS, A. O. S. *et al.* Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 15–21, 2016. ISSN 2447-6218. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2935>. Acesso em: 14 de janeiro de 2023.

SANTOS, M. *et al.* Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *schinus terebinthifolius raddi* (anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*hypothenemus hampei*) ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 757–762, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/wvXYLM9LmgYTRWfN933RG7y/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

SERAFINI, L. *et al.* **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Educs, Caxias do Sul, 2002. Disponível em: <https://ucsminhaescolha.com.br/site/editora/catalogo/biotecnologia/extracoes-e-aplicacoes-de-oleos-essenciais-de-plantas/>. Acesso em: 16 de maio de 2022.

SERRANO, C.; FIGUEIREDO, A. C. Métodos de obtenção dos óleos essenciais e outros extratos. **A Fileira das Plantas Aromáticas e o Desenvolvimento Local**, p. 83, 2018. Disponível em: <https://www.inia.pt/images/publicacoes/livros-manuais/silva-lusitana/Plantas-Aromaticas-3.pdf#page=87>. Acesso em: 25 de junho de 2022.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of citrus *sinensis* (L.) osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *aspergillus niger* (L.) van tieghem. **Microbiological Research**, v. 163, n. 3, p. 337–344, 2008. ISSN 0944-5013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501306000711>. Acesso em: 22 de janeiro de 2023.

SHARON-ASA, L. *et al.* Citrus fruit flavor and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and developmental regulation of *cstps1*, a key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 36, n. 5, p. 664–74, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14617067/>. Acesso em: 13 de junho de 2022.

SHEIKH, M.; MEHNAZ, S.; SADIQ, M. B. Prevalence of fungi in fresh tomatoes and their control by chitosan and sweet orange (*citrus sinensis*) peel essential oil coating. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Wiley, v. 101, n. 15, p. 6248–6257, dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33937995/>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

SHI, Y. *et al.* Navel orange peel essential oil to control food spoilage molds in potato slices. **Journal of Food Protection.**, International Association for Food Protection, v. 81, n. 9, p. 1496–1502, set. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30109970/>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

SIGMA-ALDRICH. **Grupo Merck - DL-Limoneno**. 2022. Disponível em: https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/DL-Limonene,MDA_CHEM-814546. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

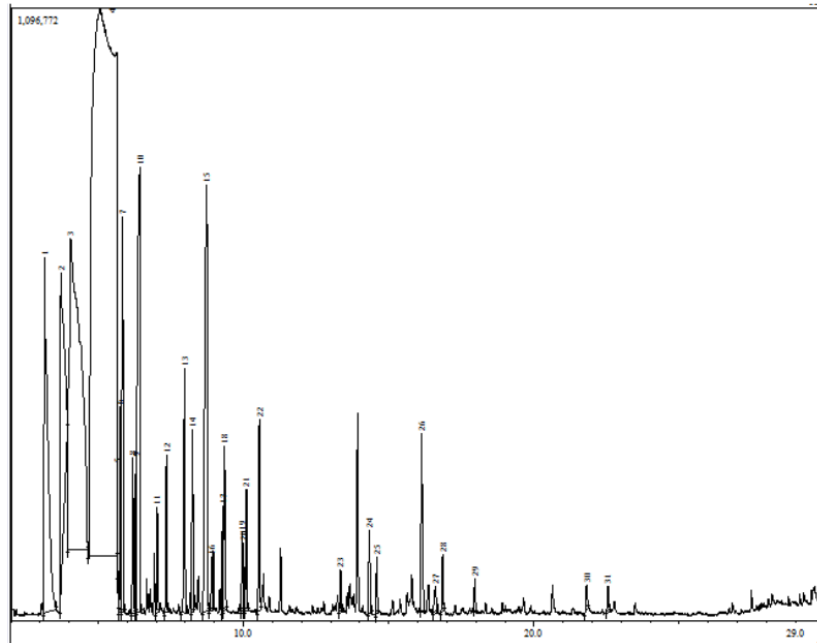
- SILVA, M. G. F. D. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco - PR. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/15424>. Acesso em: 23 de junho de 2022.
- SIMAS, D. L. *et al.* Caracterização dos óleos essenciais de frutas cítricas. **Citrus Research & Technology**, Centro de Citricultura Sylvio Moreira/Instituto Agrônomo, v. 36, n. 1, p. 15–26, 2015. Disponível em: <https://citrusrt.cesm.br/article/doi/10.5935/2236-3122.20150003>. Acesso em: 25 de junho de 2022.
- SIMONETTI, E. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de eugenia anomala e psidium salutare (myrtaceae) frente à escherichia coli e listeria monocytogenes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 09–18, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/7GbH5nbrpZW9Q3GMjT9vx3J/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 19 de janeiro de 2023.
- STEFFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees amp; Eberm var. linaloolifera Fujita) utilizando CO₂**. 2003. Tese doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/84684>. Acesso em: 18 de junho de 2022.
- SUSUKI, L. L. **Análise técnico-econômica e ambiental de processos de valorização do resíduo da indústria de suco de laranja**. 2019. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-28112019-141114/publico/LorrayneLinsSuzukicorr.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2022.
- SUZUKI, L. L. **Análise técnico-econômica e ambiental de processos de valorização do resíduo da indústria de suco de laranja**. 2019. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo - São Paulo. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-28112019-141114/publico/LorrayneLinsSuzukicorr.pdf>. Acesso em: 02 de janeiro de 2023.
- VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. A GENERALIZATION OF THE RETENTION INDEX SYSTEM INCLUDING LINEAR TEMPERATURE PROGRAMMED GAS-LIQUID PARTITION CHROMATOGRAPHY. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 11, p. 463–471, ago. 1963. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.
- VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J. *et al.* Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 1–4, 2013. ISSN 0956-7135. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512005294>. Acesso em: 13 de janeiro de 2023.
- VIDAL, M. de F. **Produção de laranja na área de atuação do BNB**. Caderno Setorial, Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, 2021. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1041/1/2021_CDS_198.pdf. Acesso em: 12 de junho de 2022.
- YOKOMIZO, N.; NAKAOKA-SAKITA, M. Atividade antimicrobiana e rendimento do óleo essencial de pimenta pseudocaryophyllus var. pseudocaryophyllus (gomes) landrum,

myrtaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 513–520, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/fXCMQqFn4dZjWmbC386rLQH/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

YSC. **YSC - OLEO ESSENCIAL DE LARANJA 10X**. 2022. Disponível em: <https://ysc.com.br/produto/oleo-essencial-de-laranja-10x/>. Acesso em: 14 de dezembro de 2022.

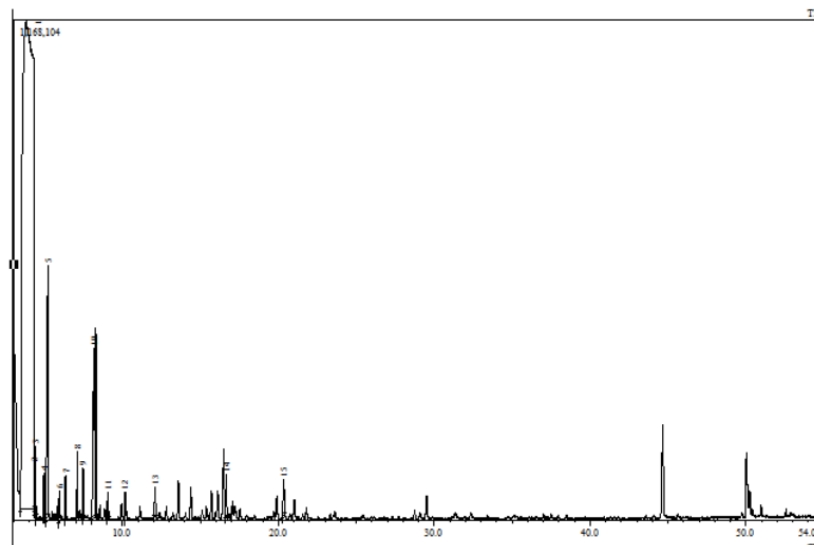
ANEXO A – CROMATOGRAMA DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS

Figura 12 – Cromatograma dos compostos identificados na fração apolar



Fonte: A autora, 2023

Figura 13 – Cromatograma dos compostos identificados na fração polar



Fonte: A autora, 2023

ANEXO B – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS

Tabela 9 – Compostos orgânicos voláteis do óleo essencial da laranja

| Pico | Componentes Orgânicos Voláteis | IS | IRL | IRLexp | Quantificação (ug/ml) |
|------|--|----|------|--------|-----------------------|
| 1 | alpha.-Pinene | 96 | 948 | 928 | 0,37 |
| 2 | beta.-Phellandrene | 94 | 964 | 966 | 0,14 |
| 3 | beta.-Myrcene | 90 | 958 | 989 | 1,44 |
| 4 | D-Limonene | 95 | 1018 | 1048 | 4,49 |
| 5 | cis-.beta.-Ocimene | 94 | 976 | 1063 | 0,03 |
| 6 | gamma.-Terpinene | 96 | 998 | 1067 | 0,07 |
| 7 | 1-Octanol | 96 | 1059 | 1074 | 0,33 |
| 8 | 2-Carene | 94 | 948 | 1086 | 0,07 |
| 9 | Nonanal | 93 | 1104 | 1091 | 0,07 |
| 10 | beta.-Linalool | 95 | 1082 | 1098 | 0,49 |
| 11 | trans-p-Mentha-2,8-dienol | 93 | 1120 | 1106 | 0,01 |
| 12 | Limonene oxide | 92 | 1031 | 1117 | 0,02 |
| 13 | trans-d-Limonene oxide | 96 | 1031 | 1121 | 0,04 |
| 14 | Citronellal | 97 | 1125 | 1136 | 0,08 |
| 15 | 4-Terpineol | 96 | 1137 | 1160 | 0,12 |
| 16 | 1-Nonanol | 95 | 1159 | 1164 | 0,08 |
| 17 | alpha.-Terpineol | 94 | 1143 | 1171 | 0,10 |
| 18 | Decanal | 94 | 1204 | 1193 | 0,50 |
| 19 | cis-Carveol | 90 | 1206 | 1197 | 0,01 |
| 20 | D-Carvone | 93 | 1190 | 1211 | 0,03 |
| 21 | beta.-Citronellol | 91 | 1179 | 1215 | 0,18 |
| 22 | trans,cis-2,6-Nonadien-1-ol | 85 | 1175 | 1239 | 0,10 |
| 23 | alpha.-Citral | 95 | 1174 | 1245 | 0,12 |
| 24 | 1-Decanol | 98 | 1258 | 1263 | 0,22 |
| 25 | Undecanal | 93 | 1303 | 1288 | 0,07 |
| 26 | alpha.-Terpineol acetate | 96 | 1333 | 1328 | 0,02 |
| 27 | Citronellol acetate | 94 | 1302 | 1336 | 0,01 |
| 28 | alpha.-Cubebene | 90 | 1344 | 1342 | 0,02 |
| 29 | Nerol acetate | 94 | 1352 | 1344 | 0,02 |
| 30 | Geranyl acetate | 96 | 1352 | 1363 | 0,03 |
| 31 | alfa.-Copaene | 94 | 1221 | 1368 | 0,06 |
| 32 | Isobutyric acid, octyl ester | 94 | 1317 | 1377 | 0,03 |
| 33 | beta.-Elemene | 92 | 1398 | 1382 | 0,08 |
| 34 | Dodecanal | 96 | 1402 | 1392 | 0,22 |
| 35 | Caryophyllene | 96 | 1494 | 1406 | 0,10 |
| 36 | Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene | 91 | 1464 | 1417 | 0,08 |
| 37 | Humulene | 93 | 1579 | 1439 | 0,03 |
| 38 | cis-.beta.-Farnesene | 90 | 1440 | 1449 | 0,03 |
| 39 | epi-Bicyclosesquiphellandrene | 90 | 1435 | 1466 | 0,03 |
| 40 | Valencene | 96 | 1474 | 1481 | 0,22 |
| 41 | alpha.-Muurolene | 94 | 1440 | 1486 | 0,02 |
| 42 | alpha.-Farnesene | 90 | 1458 | 1496 | 0,05 |
| 43 | alpha.-Panasinsen | 90 | 1416 | 1500 | 0,03 |
| 44 | beta.-Cadinene | 93 | 1440 | 1508 | 0,09 |
| 45 | Caryophyllene oxide | 93 | 1507 | 1556 | 0,03 |
| 46 | Hexanoic acid, octyl ester | 90 | 1580 | 1568 | 0,02 |
| 47 | Tetradecanal | 96 | 1601 | 1592 | 0,01 |
| 48 | Juniper camphor | 94 | 1647 | 1627 | 0,01 |
| 49 | 2,6,9,11-Dodecatetraenal, 2,6,10-trimethyl | 90 | 1646 | 1669 | 0,01 |

IS: índice de similaridade da literatura NIST11. IRL: índices de retenção da literatura NIST11.

IRL exp: índices de retenção experimental

Fonte: A autora, 2023

**ANEXO C – FRAÇÕES POLAR E APOLAR DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS
NO ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA**

Tabela 10 – Fração polar dos compostos identificados do óleo essencial da laranja

| Pico | Fração polar | IS | IRL | IRL _{exp} | Quantificação (%) |
|------|------------------------|----|------|--------------------|-------------------|
| 1 | D-Limonene | 95 | 1018 | 964 | 84.40 |
| 2 | trans-.beta.-Ocimene | 93 | 976 | 996 | 0.16 |
| 3 | gamma.-Terpinene | 97 | 998 | 1001 | 0.45 |
| 4 | 4-Carene | 96 | 919 | 1025 | 0.41 |
| 5 | beta.-Linalool | 98 | 1082 | 1037 | 5.43 |
| 6 | trans-d-Limonene oxide | 94 | 1031 | 1071 | 0.29 |
| 7 | Citronellal | 96 | 1125 | 1090 | 0.49 |
| 8 | Terpinen-4-ol | 97 | 1137 | 1122 | 0.84 |
| 9 | alpha.-Terpineol | 97 | 1143 | 1136 | 0.66 |
| 10 | Decanal | 92 | 1204 | 1165 | 4.17 |
| 11 | beta.-Citral | 97 | 1174 | 1200 | 0.33 |
| 12 | Citral | 96 | 1174 | 1242 | 0.34 |
| 13 | 1-Nonanol, | 90 | 1200 | 1316 | 0.50 |
| 14 | Tricecanal | 95 | 1502 | 1447 | 0.77 |
| 15 | Valencene | 95 | 1474 | 1575 | 0.76 |

IS: índice de similaridade da literatura NIST11. IRL: índices de retenção da literatura NIST11.

IRL exp: índices de retenção experimental

Fonte: A autora, 2023

Tabela 11 – Fração apolar dos compostos identificados do óleo essencial da laranja

| Pico | Fração apolar | IS | IRL | IRLexp | Quantificação (%) |
|------|---------------------|----|------|--------|-------------------|
| 1 | alpha.-Pinene | 96 | 948 | 921 | 5.49 |
| 2 | beta.-Phellandrene | 95 | 964 | 956 | 4.80 |
| 3 | beta.-Myrcene | 90 | 958 | 977 | 14.87 |
| 4 | D-Limonene | 95 | 1018 | 1030 | 51.05 |
| 5 | 3-Carene | 93 | 948 | 1058 | 0.18 |
| 6 | gamma.-Terpinene | 96 | 998 | 1062 | 0.57 |
| 7 | 1-Octanol | 94 | 1059 | 1066 | 2.18 |
| 8 | 4-Carene | 95 | 919 | 1082 | 0.63 |
| 9 | Nonanal | 90 | 1104 | 1087 | 0.64 |
| 10 | beta.-Linalool | 95 | 1082 | 1093 | 4.68 |
| 11 | Limonene oxide | 95 | 1031 | 1118 | 0.45 |
| 12 | Citronellal | 95 | 1125 | 1131 | 0.67 |
| 13 | Terpinen-4-ol | 92 | 1137 | 1156 | 1.38 |
| 14 | alpha.-Terpineol | 96 | 1143 | 1167 | 0.91 |
| 15 | Decanal | 94 | 1204 | 1186 | 4.27 |
| 16 | cis-Carveol | 90 | 1206 | 1193 | 0.29 |
| 17 | D-Carvone | 90 | 1190 | 1208 | 0.56 |
| 18 | Citronellol | 92 | 1179 | 1210 | 0.98 |
| 19 | Geraniol | 90 | 1228 | 1234 | 0.44 |
| 20 | Perillal | 90 | 1207 | 1235 | 0.26 |
| 21 | alpha.-Citral | 96 | 1174 | 1239 | 0.61 |
| 22 | 1-Decanol | 97 | 1258 | 1256 | 1.04 |
| 23 | alfa.-Copaene | 94 | 1221 | 1363 | 0.21 |
| 24 | Caryophyllene | 96 | 1494 | 1401 | 0.45 |
| 25 | Valencene | 97 | 1474 | 1436 | 0.29 |
| 26 | alpha.-Farnesene | 91 | 1458 | 1445 | 1.11 |
| 27 | delta.-Cadinene | 93 | 1469 | 1501 | 0.21 |
| 28 | Caryophyllene oxide | 94 | 1507 | 1525 | 0.29 |
| 29 | alpha.-Bisabolene | 90 | 1518 | 1581 | 0.16 |
| 30 | alpha.-Sinensal | 90 | 1646 | 1613 | 0.18 |
| 31 | Nootkatone | 95 | 1645 | 1647 | 0.15 |

IS: índice de similaridade da literatura NIST11. IRL: índices de retenção da literatura NIST11.

IRL exp: índices de retenção experimental

Fonte: A autora, 2023