



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

“Identificação dos componentes do óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) e proposição de procedimentos industriais para a obtenção de produtos diferenciados“

MARCELO LUIZ TITA
Sucocítrico Cutrale Ltda, Químico Pleno

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE PROFISSIONAL EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA TECNOLÓGICA.

Orientador: PAULO CEZAR VIEIRA

São Carlos - SP
2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T617ic

Tita, Marcelo Luiz.

Identificação dos componentes do óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) e proposição de procedimentos industriais para a obtenção de produtos diferenciados / Marcelo Luiz Tita. -- São Carlos : UFSCar, 2011.

92 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Destilação. 2. Espectrometria de massas. 3. Cromatografia gasosa. 4. Fracionamento. 5. Quimiometria. I. Título.

CDD: 663.16 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Profissional


*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado profissional do candidato **Marcelo Luiz Tita**, realizada em 21 de outubro de 2011:*



Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira



Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho



Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

AGRADECIMENTOS

- à Maria Carla, minha esposa, que foi mãe e um pouco pai do nosso filho Gabriel, para que eu pudesse, aos sábados e domingos bem cedo, até a tardinha, me ausentar e me dedicar aos estudos e trabalhos; e por ter aberto mão de sua própria especialização para que pudesse concluir a minha; e ao Gabriel, meu filho, por entender minhas ausências do convívio familiar;

- aos meus pais, Ana Maria e José Luiz, e meu irmão Diego, pelo bom encaminhamento, pelo exemplo de dedicação, persistência e por favorecerem que tivesse condições de estudos, dentro do que poderiam me oferecer;

- ao professor Dr. Paulo Cezar Vieira pela orientação e ajuda no crescimento acadêmico e profissional;

- ao professor Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho pela ajuda especial com a quimiometria, pelas discussões e sugestões;

- ao professor Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes, da USP / Ribeirão Preto, por ceder seu equipamento de CG-EM para podermos efetuar as análises cromatográficas;

- à Sucocítrico Cutrale Ltda, nas pessoas de: Cláudia de Carvalho Kammer, José Olímpio Nogueira Gerardi, Rinaldo da Silva Ribeiro, Dino Édio Catirse, André Bráz Pavão, Anacleto Joel Leite, Alessandro Pinto Ribeiro, Sebastião Cabau e Pedro Messias; ao grupo de análise sensorial das fábricas de Araraquara e Colina;

- a todos, que de uma forma ou de outra, foram envolvidos e contribuíram para a realização dos trabalhos;

- a Deus, pelo dom da vida e pelo que sou.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1 – Exportação brasileira no ano de 2010 de produtos incluídos na classificação nº 3301 (óleos essenciais, resinoides e subprodutos terpênicos) obtida da base de dados de consulta pública do COMTRADE (2011) - <i>United Nations Commodity Trade Statistics Database</i>	2
Tabela 1-2 – Exportação brasileira no ano de 2010 de produtos incluídos na classificação nº 330112 (óleo essencial de laranja) obtida da base de dados de consulta pública do COMTRADE (2011) - <i>United Nations Commodity Trade Statistics Database</i>	2
Tabela 3-1 – Composição média de alguns parâmetros para a laranja.....	8
Tabela 4-1 – Condições cromatográficas para o Cromatógrafo a Gás.....	25
Tabela 4-2 – Condições para o Espectrômetro de Massas.....	26
Tabela 5-1 – Apresentação dos detalhes do preparo das amostras/misturas referente às frações Am3, Am8 e Am60, para o painel sensorial.....	30
Tabela 5-2 – Resultados de análise sensorial para os testes triangulares de reconhecimento.....	32
Tabela 5-3 – Notas para os testes triangulares de reconhecimento das frações Am3, Am8 e Am60, em suas diluições, para os provadores selecionados P2, P3, P6, P8, P10 e P11.....	33
Tabela 5-4 – Médias dos comparativos entre as misturas A e B para as frações Am3, Am8 e Am60.....	34
Tabela 5-5 - Resultados de análise sensorial para os testes triangulares de reconhecimento das misturas A1, A2 e A3, das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente.....	34
Tabela 5-6 - Notas para os testes triangulares de reconhecimento das misturas A1, A2 e A3, das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente, para os provadores selecionados P2, P3, P5, P7, P8, P9 e P11.....	36
Tabela 5-7 – Relação entre os tempos de retenção com PC1 e PC2, e os compostos identificados por PBM (<i>Probability based matching</i>) / Espectrometria de Massas...	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 3-1: Esquema geral de uma laranja em corte transversal, identificando suas principais partes.....	7
Figura 3-2: Processamento da laranja dividido em 52 etapas.....	12
Figura 5-1: Apresentação comparativa dos cromatogramas (TIC) das frações Am3, Am8 e Am60 até 20min de análise.....	27
Figura 5-2 - Gráfico da disposição de PC1 <i>versus</i> PC2 para os dados cromatográficos das frações do TESTE1 e TESTE2	28
Figura 5-3 - Gráfico de Loadings para as variáveis analisadas tendo PC1 e PC2 para os dados cromatográficos das frações do TESTE1 e TESTE2.....	29
Figura 5-4 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am3 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (<i>Probability based matching</i>) / Espectrometria de Massas.....	38
Figura 5-5 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am8 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (<i>Probability based matching</i>) / Espectrometria de Massas.....	39
Figura 5-6 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am60 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (<i>Probability based matching</i>) / Espectrometria de Massas.....	39
Figura 5-7 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto acetaldeído da fração Am3.....	40
Figura 5-8 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto ácido butanóico / butirato de etila da fração Am3	41
Figura 5-9 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto Δ -3-careno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c).....	41
Figura 5-10 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (HOUSE e ROAD, 1991) para o composto α -felandreno da fração Am8.....	42
Figura 5-11 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (c) (NIST, 2011) para o composto β -felandreno das frações Am3 (a) e Am60 (b).....	42

Figura 5-12 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto hexanal da fração Am3.....	43
Figura 5-13 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto D-limoneno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c).....	43
Figura 5-14 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto linalol da fração Am60.....	44
Figura 5-15 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto β -mirceno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)	44
Figura 5-16 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto octanal das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c).....	45
Figura 5-17 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto α -pineno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c).....	46
Figura 5-18 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (c) (NIST, 2011) para o composto β -pineno das frações Am3 (a) e Am8 (b).....	47
Figura 5-19 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (HOUSE e ROAD, 1991) para o composto sabineno da fração Am3.....	47
Figura 5-20 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto α -tujeno da fração Am3.....	48

RESUMO

Identificação dos componentes do óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) e proposição de procedimentos industriais para a obtenção de produtos diferenciados

As exportações brasileiras de óleo essencial de laranja são responsáveis por movimentar aproximadamente setenta e quatro milhões de dólares, o que representa uma parcela expressiva dos negócios brasileiros e merece grande atenção por parte das empresas envolvidas.

Houve o interesse por parte da empresa de realizar essa pesquisa, devido ao número baixo de trabalhos verificados na literatura que promovessem estudo ao óleo essencial de laranja com mecanismo de destilação em nível industrial.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo estudar o óleo essencial de laranja em sua composição, e estabelecer através de destilação a vácuo, em nível industrial, uma sistemática para preparar um produto com perfil sensorial que fosse diferencial no mercado. Para isso utilizaram-se ferramentas estatísticas para tratar os resultados das análises cromatográficas de CG-EM, além de análise sensorial para caracterizar os produtos obtidos.

Carregou-se a planta industrial de uma destilaria com aproximadamente 1730 kg de óleo essencial de laranja. Realizaram-se os ajustes necessários nos equipamentos e promoveu-se a destilação, recolhendo várias frações. Esses procedimentos foram realizados em dois *set-ups* diferentes. Essas frações foram analisadas por CG-EM e levantado seu perfil, frente a PCA. Foram escolhidas três amostras referentes aos grupos observados na PCA e realizaram-se os testes sensoriais.

Os testes sensoriais revelaram certa aceitabilidade, ora positiva ou negativa, das frações em relação ao suco padrão. Isso leva a crer que os provadores não têm o paladar para este tipo de produto. Em comparação com uma coleção de amostras de clientes do exterior, recebidas/pesquisadas pela empresa, essas frações apresentam grande similaridade, levando a crer que há mercado internacional para esse tipo de produto.

ABSTRACT

Identification of the components of essential oil of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) and proposal of industrial processes to obtain differentiated products

Brazilian exports of orange essential oil are responsible for moving approximately seventy-four million dollars, representing a significant portion of Brazilian business, and deserve the attention from the companies involved in this business.

There was interest by the company (Cutrale) to conduct this research, due to the low number of papers found in the literature to promote the study with orange essential oil distillation facility at the industrial level.

Thus, this work was aimed to study the essential oil of orange in its composition, and establish by vacuum distillation an industrial scale, of a system for preparing a product with sensory profile that was not available in the market. For that, we used statistical tools to deal with the results of chromatographic analysis of GC/MS, and sensory analysis to characterize the products obtained.

The distillation was carried out in a distillery plant with about 1730kg of orange essential oil. It was the necessary the proper adjustment of the equipment and then the product was distilled, and several fractions were collected. The procedure was performed in two different set-ups. The first one involved low heating and low distilling flow, and the second higher heating and distilling flow. The originated fractions from both procedures were analyzed by GC/MS and their profile, were compared using PCA. Three samples were chosen for the sensory tests after the analysis by PCA.

The tests revealed some sensory acceptability, either positive or negative of fractions of the juice when compared with the positive control (standard juice). This suggests that the testers do not have the taste for this type of product. Compared with a collection of samples of customers from abroad, received/analyzed by the company, these fractions are very similar, implying that there is possible that the samples we obtained may be of interest for international market.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – PRODUTOS PROVENIENTES DO PROCESSAMENTO DA LARANJA.....	1
1.2 – IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	1
2 – OBJETIVOS.....	4
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 – ASPECTOS BOTÂNICOS DA LARANJA.....	5
3.2 – HISTÓRICO, CLASSIFICAÇÕES E ASPECTOS BOTÂNICOS DA LARANJA	5
3.3 – PROCESSO DE FABRICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE <i>CITRUS</i>	8
3.3.1 – PRODUTOS.....	8
3.3.2 – SUBPRODUTOS	13
3.3.2.1 – ÓLEO ESSENCIAL	13
3.3.2.2 – LIMONENO.....	15
3.3.2.3 – ESSÊNCIAS E AROMAS.....	16
3.4 – READIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL, ESSÊNCIA E AROMA EM SUCO CONCENTRADO.....	17
3.5 – COMPONENTES VOLÁTEIS.....	18
3.6 – OUTRAS APLICAÇÕES PARA OS ÓLEOS ESSENCIAIS, ESSÊNCIAS E AROMAS	19
3.7 – CROMATOGRAFIA	20
3.8 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS	21
4 – PARTE EXPERIMENTAL	24
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 – CROMATOGRAMAS OBTIDOS	27
5.2 – ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS CROMATOGRÁFICOS.....	28
5.3 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA A ANÁLISE SENSORIAL	29
5.4 – RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL.....	31
5.5 – ESPECTROS DE MASSAS	35
5.6 – ESPECTROS DE MASSAS E ANÁLISE EXPLORATÓRIA.....	35
5.7 – IDENTIFICAÇÃO DAS BANDAS CROMATOGRÁFICAS ATRAVÉS DOS ESPECTROS DE MASSAS	37
5.8 – ESTUDO DOS ESPECTROS DE MASSAS EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	40
6 – CONCLUSÃO	49
7 – APÊNDICES	52
8 – REFERÊNCIAS	85

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – PRODUTOS PROVENIENTES DO PROCESSAMENTO DA LARANJA

O processo de obtenção dos sucos de laranja concentrado congelado (FCOJ, *Frozen concentrated orange juice*) do não concentrado (NFC, *Not from concentrated*), do concentrado reconstituído e do suco fresco, consiste uma série de operações industriais de grande escala, conforme os relatos de AMARO (1999), ESCOBAR *et al.* (1999), NEVES *et al.* (2001), NEVES e LOPES (2005), agregando mais valor comercial à fruta e à cultura cítrica. Além da produção do suco, o processamento da laranja também obtém alguns subprodutos (TAYLOR, 2005).

1.2 – IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Há aproximadamente trezentos óleos essenciais de interesse comercial e valor agregado produzidos mundialmente, como de cânfora (*Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl.), citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt, *C. nardus* (L.) Rendle), eucalipto tipo cineol (*Eucalyptus globulus* Labill., *E. polybractea* R.T. Baker, *Eucalyptus* spp.), eucalipto tipo citronela (*Eucalyptus citriodora* Hook.), grapefruit (*Citrus paradisi* Macfady), laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) e limão (*Citrus limon* (L.) N.L. Burm.) (BIZZO *et al.*, 2009; LAWRENCE, 1993).

Consultando a base de dados americana COMTRADE (2011) (*United Nations Commodity Trade Statistics Database*), obtivemos os dados de exportação para os produtos do grupo que se incluem os óleos essenciais (n° 3301 – óleos essenciais, resinoides e subprodutos terpênicos), para o ano de 2010, conforme mostra a Tabela 1-1.

Os Estados Unidos da América (EUA) e a Holanda são os maiores importadores desses produtos brasileiros, com 31,5% e 13,7%, respectivamente. Esse mercado é responsável por uma movimentação de US\$ 165 milhões ao ano, levando em consideração somente as exportações brasileiras.

Especialmente em relação ao óleo essencial de laranja (n° 330112 - óleo essencial de laranja), para o ano de 2010, os dados apresentados no COMTRADE (2011) (*United Nations Commodity Trade Statistics Database*) mostram a importância comercial deste produto para as exportações brasileiras, conforme apresentado na Tabela 1-2.

Tabela 1-1 – Exportação brasileira no ano de 2010 de produtos incluídos na classificação nº 3301 (óleos essenciais, resinoides e subprodutos terpênicos) obtida da base de dados de consulta pública do COMTRADE (2011) - *United Nations Commodity Trade Statistics Database*

Parceiro	Valor comercial (US\$)	Peso líquido (kg)	Porcentagem de representação na exportação global
<u>Global</u>	<u>165.903.120</u>	<u>70.216.695</u>	<u>100,0</u>
EUA	52.213.733	23.993.471	31,5
Holanda	22.685.605	6.373.299	13,7
Japão	12.874.774	9.173.821	7,8
Reino Unido	11.637.211	3.294.328	7,0
Alemanha	9.731.092	4.761.345	5,9
China	9.409.064	4.962.521	5,7

Referente às contribuições comerciais dos EUA e Holanda, juntos adquirem mais de 50% das exportações de óleo essencial de laranja do mercado brasileiro. Isso significa um valor comercial de mais de US\$ 38 milhões por ano.

Tabela 1-2 – Exportação brasileira no ano de 2010 de produtos incluídos na classificação nº 330112 (óleo essencial de laranja) obtida da base de dados de consulta pública do COMTRADE (2011) - *United Nations Commodity Trade Statistics Database*

Parceiro	Valor comercial (US\$)	Peso líquido (kg)	Porcentagem de representação na exportação global
<u>Global</u>	<u>74.644.586</u>	<u>28.833.714</u>	<u>100,0</u>
EUA	23.384.589	8.208.107	31,3
Holanda	14.707.625	5.509.317	19,7
Reino Unido	7.659.073	2.702.610	10,3
Alemanha	5.233.097	3.051.712	7,0
Índia	2.692.887	1.392.349	3,6
Espanha	2.534.881	1.068.422	3,4
China	2.452.835	1.103.501	3,3

Mesmo sendo um país de destaque mundial nas exportações de óleo essencial, o Brasil ainda sofre de problemas como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor. Visando racionalizar o segmento, criou-se a ABRAPOE

(Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais), que tem como objetivos: aproximar produtores aos centros nacionais de pesquisa pelos estudos de padronização, fornecer dados atualizados de mercado e representar o segmento junto ao governo federal, tudo para agregar qualidade aos óleos (BIZZO *et al.*, 2009).

2 – OBJETIVOS

A presente dissertação de mestrado profissional de caráter tecnológico teve como objetivo estudar o óleo essencial de laranja em sua composição, e estabelecer um perfil sensorial que seja diferenciado no mercado. Podemos dividir os objetivos em:

- estabelecer uma metodologia/sistemática para a obtenção industrial de frações de óleo essencial de laranja, através de sua destilação a vácuo;
- estudar a correlação entre as frações e o grau de satisfação para os provadores da empresa de sucos cítricos, através de teste sensorial com as frações adicionadas ao suco de laranja;
- tratar o conjunto de dados obtidos utilizando ferramentas quimiométricas, onde serão usados recursos matemáticos para análise exploratória dos dados;
- verificar os perfis sensoriais e cromatográficos das frações coletadas e relacioná-los com a análise exploratória ou com os resultados dos testes sensoriais.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – ASPECTOS BOTÂNICOS DA LARANJA

O termo fruta é aplicado à estrutura que cerca, protege ou guarda as sementes até estarem maduras, no estágio da reprodução das espécies botânicas em todo o reino dos vegetais. Podemos classificar as frutas em dois tipos, de acordo com suas condições físicas quando maduras: as secas e as carnudas (TAYLOR, 2005).

O surgimento de humanos no planeta e sua própria evolução para a categoria de caçador-colhedor trouxeram um novo significado para o termo “seleção”. Nossos antecessores deram os primeiros passos na categorização das frutas disponíveis de acordo com o caráter do aroma. Muitas das variedades comerciais de frutas populares no mundo ocidental têm sido desenvolvidas de espécies cuja origem pode ser remetida para regiões do leste do Mediterrâneo, como por exemplo: pêssego, damasco, cereja, maçã e pêra que cresceram nas proximidades férteis e tornaram parte da dieta básica dos habitantes daquela região (TAYLOR, 2005).

O centro reprodutivo da planta é a flor, o precursor da fruta. Uma série de mudanças resulta na formação da fruta, que começa com o processo de polinização, onde o pólen é transferido de uma flor a outra, por vários mecanismos dependentes da espécie da planta. Essencialmente, estes mecanismos podem ser iniciados por um inseto visitando uma flor e tornando-se impregnado com o pólen, e então visitando outra flor carregando para ela o pólen da primeira e impregnando mais pólen dessa nova flor em seu corpo, e aí sucessivamente nas demais visitas a outras flores. (TAYLOR, 2005).

3.2 – HISTÓRICO, CLASSIFICAÇÕES E ASPECTOS BOTÂNICOS DA LARANJA

Segundo REUTHER *et al.* (1967) e WEBBER (1967), a origem das plantas cítricas deu-se nas regiões tropicais e subtropicais do sudeste da Ásia e do arquipélago da Malásia e suas ilhas adjacentes. Retrata também que a propagação dos *citrus* foi um processo lento, marcado pelas diferenças relativamente pequenas das variedades originais até a obtenção das variedades atualmente conhecidas.

SIMÃO (1998) relata que a cultura de *citrus* se estendeu desde a Índia, o norte da China, a Nova Guiné até a Austrália. Segundo MALAVOLTA e NETTO (1989) e TAYLOR (2005), a primeira espécie de conhecimento dos europeus foi a *cidra* (*Citrus medica* L.), mencionada a 300 anos a.C. Na época do Império Romano, a laranja e o limão foram introduzidos na região do Mediterrâneo. Além disso, a laranja doce foi uma das últimas levadas para a Europa por volta do século XV. O cultivo de frutas cítricas tinha se espalhado para todo mundo, para todas as regiões onde o clima não era muito severo durante os meses de inverno e onde estava disponível a condição de solo apropriada.

Sabe-se que nenhuma espécie do gênero dos *citrus* é originária da América, sendo que, no continente americano, as primeiras sementes foram introduzidas por Cristóvão Colombo no ano de 1493, no Haiti (WEBBER, 1967).

Já no Brasil no ano de 1540, há relatos da propagação e crescimento de numerosas árvores de cítricos, caracterizando laranjais espalhados pelo litoral, conforme registros em diários ou retratados em pinturas de viajantes brasileiros e pela corte de D. João VI, quando desembarcou no Brasil. Essas frutas cítricas foram, sem dúvida, introduzidas pelas primeiras expedições, provavelmente na Bahia, na época em que o país estava dividido em capitanias hereditárias (provavelmente na de São Vicente) pela Coroa Portuguesa. Tratava-se de uma cultura importante, usada para combater o escorbuto, doença causada pela deficiência de vitamina C, o qual dizimava as tripulações dos navios que cruzavam o Atlântico (HASSE, 1984; NEVES e LOPES, 2005).

Referente aos aspectos botânicos da fruta, ela pertence à família *Rutaceae*, sub-família *Aurantioideae*, tribo *Citrae*, subtribo *Citrinae*, sendo os principais gêneros: *Fortunella*, *Poncirus* e *Citrus*. O gênero *citrus* engloba quase a totalidade das espécies comerciais cultivadas, como as laranjas doces (*Citrus sinensis* L. Osbeck), a mais importante de todas as frutas cítricas; laranjas azedas (*Citrus aurantium*), tangerinas e mexericas (*Citrus reticulata* Blanco), limas ácidas (*Citrus aurantifolia* S.), lima Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), limões verdadeiros (*Citrus limon* Burn) e pomelos (*Citrus paradisi* Macf) (SIMÃO, 1971; 1998; TAYLOR, 2005).

As plantas apresentam-se como árvores de porte médio, galhos mais ou menos eretos, folhas acuminadas (diz-se das folhas e frutos terminados em ponta). Sua produção atinge próximo de 250 kg de frutos por planta por florada completa. Seus frutos têm peso médio de aproximadamente 145 g. A casca tem cor

alaranjada, de espessura de fina a média, quase lisa e com vesículas de óleo na superfície. Tem polpa de cor laranja e textura firme, com suco abundante (SIMÃO, 1971).

A Figura 3-1 mostra um esquema geral de uma laranja com suas principais estruturas.

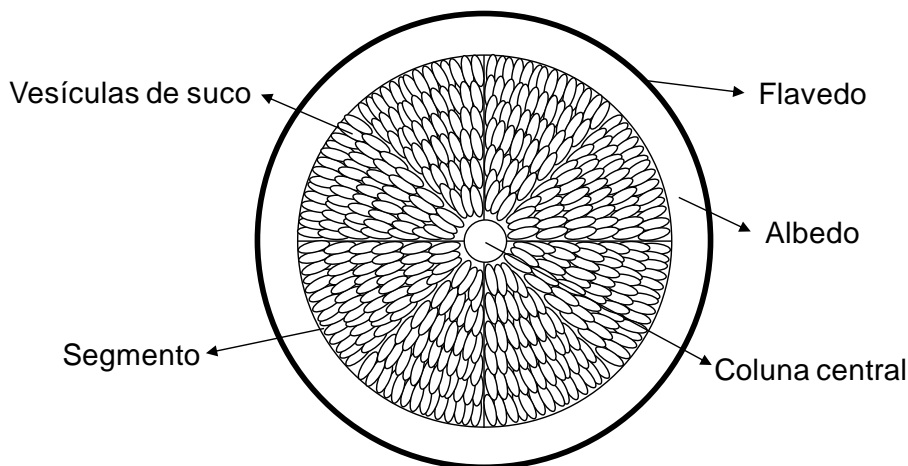


Figura 3-1: Esquema geral de uma laranja em corte transversal, identificando suas principais partes

Como mostrado na Figura 3-1, segundo TAYLOR (2005), as principais partes da laranja são:

- Flavedo: consiste na mais pesada camada de células do exterior, recoberta por uma camada de cera. Carrega os cromatóforos e numerosas glândulas esfericamente formadas, preenchidas com o óleo essencial;
- Albedo: tecido mole e branco que protege os segmentos e as vesículas de suco;
- Coluna Central: canal que atravessa toda extensão do fruto;
- Segmento: divisões que existem reunindo as vesículas de suco, conhecido popularmente como “gomos”;
- Vesículas de suco: são as estruturas que armazenam o suco da fruta.

A composição da laranja varia conforme inúmeros fatores, tendo alguns exemplos como: cavalo (em caso de enxerto), clima, altitude, adubação, irrigação, tratos culturais e estágios da maturação. Segundo NEPA/UNICAMP (2006) e VIÉGAS (1991), a Tabela 3-1 mostra a composição média de alguns parâmetros relacionados com a laranja.

Tabela 3-1 – Composição média de alguns parâmetros para a laranja

Parâmetros	Valores		
	Água	86 a 92%	Suco
Albedo			40 a 50% de flavedo
Polpa			5 a 10%
Carboidratos	9 a 12%		
Açúcares	5 a 8%		
Pectina	1 a 2%		
Fibras	0,8 a 2%		
Proteínas	0,8 a 1%		
Componentes nitrogenados	0,7 a 0,8%		
Minerais	0,5 a 0,9%		
Lipídeos	0,2 a 0,5%		
Óleo essencial	0,2 a 0,5%		
Valor calórico	33 a 45 kcal		
Semente	3 a 4 unidades em média		
Outros componentes	enzimas, pigmentos, constituintes voláteis, flavonoides e vitaminas		

3.3 – PROCESSO DE FABRICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE CITRUS

3.3.1 – PRODUTOS

Os produtos produzidos pelas indústrias que processam frutas cítricas são os sucos cítricos. No mercado consumidor brasileiro, o segmento mais expressivo para suco de laranja é a comercialização dos produtos conhecidos como FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) (ver Figura 3-2, etapa 52), NFC (*Not from concentrated*) (Figura 3-2, etapa 43), *suco concentrado reconstituído* e o *suco fresco* (AMARO, 1999; ESCOBAR *et al.*, 1999; NEVES *et al.*, 2001).

Os vários tipos de frutas cítricas podem requerer tratamento especializado durante o processamento, por causa de sua natureza, formato, tamanho e características marcantes. Em todos os momentos a operação envolve certo número de estágios: obter o fornecimento de fruta no estado correto de maturidade, extrair o suco com a maneira mais eficiente possível, e então, se preciso for, seguir com o estágio de filtração apropriada antes da concentração e eventual embalagem ou armazenamento (REINECCIUS, 2006).

No Brasil destacamos o uso da tecnologia das extratoras FMC *in-line*, sendo montada em uma única máquina, um conjunto de cinco extratores, formados

por dois copos cada um (o inferior e o superior), que se encaixam um ao outro pressionando a fruta. Podemos dividir o processo de extração em quatro etapas, conforme QUEIROZ e MENEZES (2005) e YAMANAKA (2005):

- A laranja é colocada automaticamente no copo inferior;
- O copo superior desce comprimindo a fruta contra o cortador inferior localizado na extremidade do tubo coador, que abre um orifício na fruta, através do qual o suco escoar, sem entrar em contato com a casca. Esse tubo construído de tela perfurada retém parte da polpa e as demais partes sólidas, impedindo que estas venham a se incorporar ao suco;
- A extração é completada com a compressão do material retido dentro do tubo coador;
- A casca é expelida por um espaço anular no copo superior e as membranas e sementes são retiradas pelo orifício central do elemento que comprime o material existente no interior do tubo coador, na fase final de extração.

A doçura dos açúcares e a acidez dos ácidos orgânicos são comuns a todo suco de laranja. Entretanto, os distintos sabores encontrados num determinado suco dessa fruta podem ser atribuídos à variação dos componentes dos óleos essenciais, essências e aromas presentes na fruta e no suco, os quais conferem também perfis sensoriais distintos (KIMBALL, 1991).

A Figura 3-2 apresenta esquematicamente as etapas do processamento da laranja, com seus produtos e subprodutos. De forma geral, podemos dividir o processamento em 52 etapas (ver números entre parênteses na Figura 3-2).

A colheita (Figura 3-2, etapa 2) de determinada região é programada conhecendo o grau de maturidade das frutas no pomar (Figura 3-2, etapa 1). Realiza-se o transporte (Figura 3-2, etapa 3) até a unidade fabril que fará o processamento. Na recepção de matéria-prima (Figura 3-2, etapa 4) são feitas amostragens para a realização de alguns testes preliminares, com o objetivo de conhecer as principais características da fruta, como °Brix, acidez, ratio e número de frutas por caixa de 40,4 kg. Durante o descarregamento, as frutas passam pela escolha manual (Figura 3-2, etapa 5) e, logo após, para o armazenamento (Bin) (Figura 3-2, etapa 6).

Chamada de padronização (Figura 3-2, etapa 7) a etapa de levantamento dos parâmetros de qualidade solicitados pelo cliente, a coordenação

da empresa combina as frutas de tal forma que, quando processadas, atenda os requisitos estabelecidos pelo cliente. Com as frutas já em processamento, há a higienização das mesmas (Figura 3-2, etapa 8), utilizando água do condensado a 40-50°C. Antes de entrarem para as alas das extratoras, é realizada uma segunda escolha manual e posteriormente a classificação e separação segundo os tamanhos das frutas (Figura 3-2, etapa 9).

Na ala das extratoras as frutas são direcionadas às máquinas ajustadas às suas dimensões (Figura 3-2, etapa 10). Desta etapa em diante, dividimos o processo em quatro grandes partes:

- Óleo essencial (etapas 12 a 17): as extratoras raspam a casca e com ajuda de um spray d'água, direciona essa emulsão rica em óleo para o estágio da filtração em *finishers* (Figura 3-2, etapa 11). O filtrado vai para um conjunto de centrífugas que tem a finalidade de concentrar (Figura 3-2, etapa 12), clarificar (Figura 3-2, etapa 13) e polir o óleo (Figura 3-2, etapa 14). O óleo processado é armazenado e segregado em grandes tanques, completando a etapa da *Winterização* (Figura 3-2, etapa 15) (item 3.3.2.1 - ÓLEO ESSENCIAL). Depois esse óleo é transferido para outros tanques (Figura 3-2, etapa 16) e espera seu destino final (Figura 3-2, etapa 17), envasados em tambores ou a granel.

- Bagaço (etapas 18 a 20): o que restou de casca e bagaço da extração é direcionado à caixa de bagaço (Figura 3-2, etapa 18), matéria-prima para a fabricação de farelo. Adiciona-se cal virgem a essa mistura do bagaço com água (Figura 3-2, etapa 19), e encaminha-se para as prensas (Figura 3-2, etapa 20). Nelas temos a divisão desse processo em dois:

- Limoneno (etapas 21 a 26): o que verte pelas prensas é encaminhado para as peneiras (Figura 3-2, etapa 21) para reter os fragmentos ainda presentes, e depois direcionado para os evaporadores (Figura 3-2, etapa 22), que farão a extração de voláteis (Figura 3-2, etapa 23). O produto da extração do evaporador compreende numa mistura entre fase aquosa e orgânica (D-limoneno) (Figura 3-2, etapa 26). Deixa-se essa mistura em repouso para separação das fases (Figura 3-2, etapa 24), e posteriormente sifona-se a fase orgânica. Armazena-se em tanques (Figura 3-2, etapa 25) e dá-se o destino final, acondicionando-se em tambores ou à granel.

- Farelo de casca cítrica (etapas 27 a 31): o que é retido nas prensas é seco em grandes fornos movidos a gás natural (Figura 3-2, etapa 27), depois são

peletizados (Figura 3-2, etapa 28), resfriados (Figura 3-2, etapa 29), e armazenados em silos (Figura 3-2, etapa 30), para serem embarcados como farelo de casca cítrica (Figura 3-2, etapa 31).

- Pulp-wash (polpa lavada, etapas 32 a 39): a polpa que é separada na etapa de filtração do suco (Figura 3-2, etapa 32) é direcionada para um conjunto de roscas e adiciona-se água (Figura 3-2, etapa 33). Essa mistura fica por determinado tempo sob agitação a fim de extrair certa quantidade de suco que estava contido na polpa. Após isso, a mistura de polpa e água é submetida à filtração em filtros rotativos chamados *finishers* e à centrifugação para diminuir os sólidos suspensos do suco (Figura 3-2, etapa 34). No evaporador há a concentração do suco com a retirada da água por evaporação (Figura 3-2, etapa 35). O suco já concentrado é homogeneizado (Figura 3-2, etapa 36), e pode ter dois encaminhamentos: ser misturado a outros sucos concentrados, ou resfriado (Figura 3-2, etapa 37) e armazenado (Figura 3-2, etapa 38). Assim obtém-se o *Pulp-wash* (Figura 3-2, etapa 39).

- Suco (etapa 40): o suco obtido na extração (Figura 3-2, etapa 10) é direcionado ao conjunto de filtros rotativos chamados *finishers* (Figura 3-2, etapa 32). Depois de extraído a maior parte dos sólidos, encaminha-se o filtrado para as centrífugas (Figura 3-2, etapa 40), onde são controladas as porcentagens de polpa suspensa e de óleo recuperável. Nessa etapa temos a divisão desse processo em dois:

- NFC (*Not from concentrated*, etapas 41 a 43): a parte centrifugada é direcionada para os pasteurizadores (Figura 3-2, etapa 41), depois ao armazenamento (Figura 3-2, etapa 42) e disposição do NFC (*Not from concentrated*) (Figura 3-2, etapa 43).

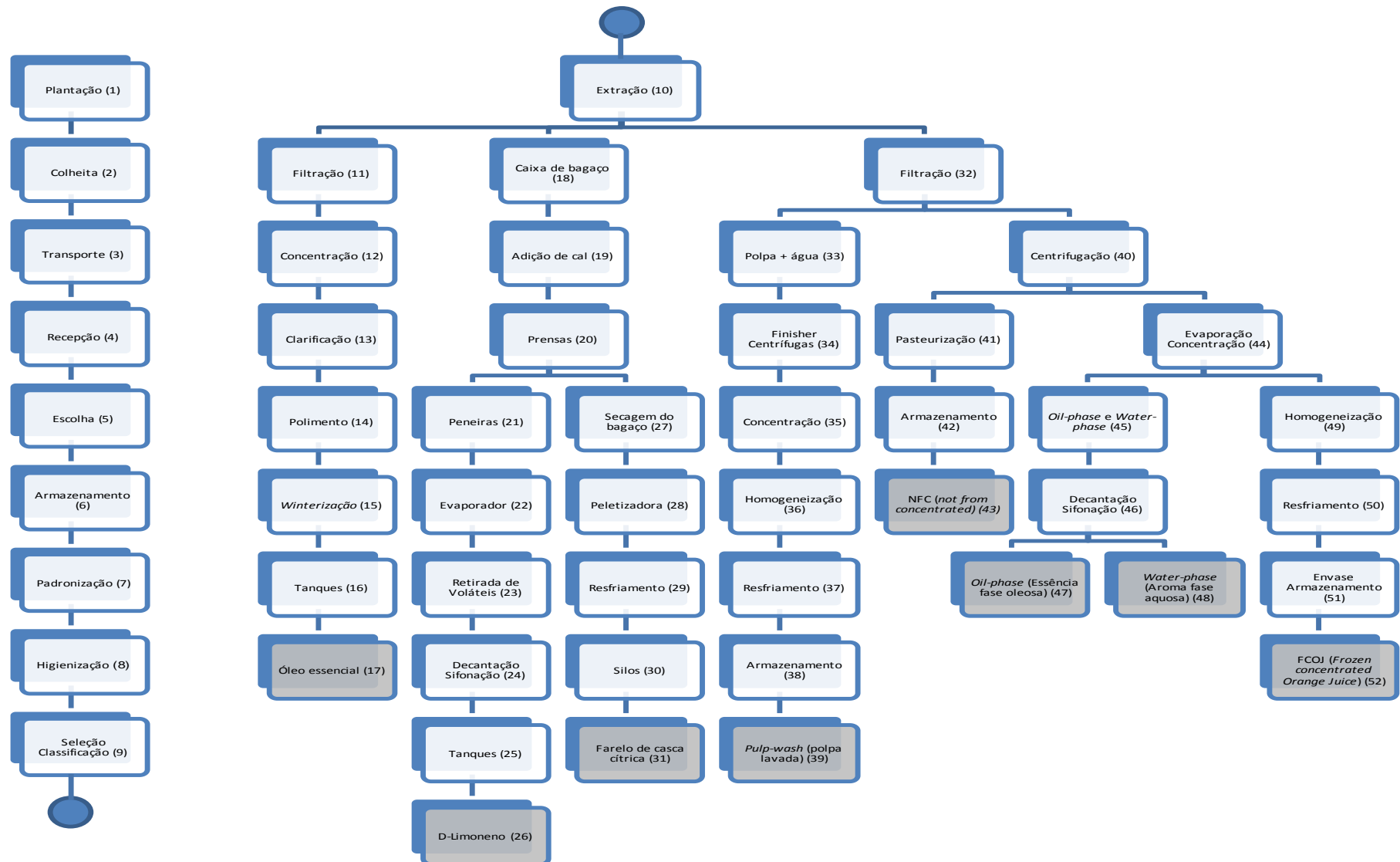


Figura 3-2: Processamento da laranja dividido em 52 etapas

- FCOJ (Frozen concentrated orange juice, etapas 44 a 52): no evaporador há a concentração do suco centrifugado por evaporação, retirando água (Figura 3-2, etapa 44). Nesta etapa também são recuperadas duas frações aromáticas juntas, uma aquosa e outra orgânica (Figura 3-2, etapa 45). Deixa-se decantar essa mistura, sifona-se (Figura 3-2, etapa 46), e obtém-se o *Oil-phase* (Essência fase oleosa) (Figura 3-2, etapa 47) e o *Water-phase* (Aroma fase aquosa) (Figura 3-2, etapa 48). O suco já concentrado é homogeneizado (Figura 3-2, etapa 49), analisado para verificar sua conformidade com os padrões estabelecidos pelo cliente, resfriado (Figura 3-2, etapa 50) e destinado à embalagem no tambor ou armazenado a granel (Figura 3-2, etapa 51). Assim obtém-se o FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) (Figura 3-2, etapa 52).

3.3.2 – SUBPRODUTOS

Toda produção em uma indústria de *citrus* que não for suco cítrico é considerada subproduto, sendo elas óleos essenciais, essências e aromas, farelo de casca cítrica, polpa e limoneno.

3.3.2.1 – ÓLEO ESSENCIAL

Quando o fruto é pressionado durante a extração (Figura 3-2, etapa 10), e sua casca é arranhada pelos copos da extratora; as glândulas esfericamente formadas que se encontram na casca são raspadas e rompidas pela superfície rugosa do interior dos copos da extratora, liberando o óleo que é arrastado por um spray d'água, formando uma emulsão água-óleo, conduzida à filtração (Figura 3-2, etapa 11). Há a filtração da emulsão no *finisher* para retenção dos fragmentos maiores de casca, e menores denominados bagacilhos. Finalmente é direcionado ao processo de separação do óleo nas centrífugas, que se divide em três etapas: concentração (5000 rpm) (Figura 3-2, etapa 12), clarificação (Figura 3-2, etapa 13) e polimento (entre 6000 e 7000 rpm) (Figura 3-2, etapa 14) (YAMANAKA, 2005).

Após a separação nas centrífugas, o óleo é armazenado em tanques de aço inoxidável, com capacidade de aproximadamente 600 ton (pouco mais de 714 milhões de litros), à temperaturas próximas à -15°C, para que haja a sedimentação e deposição das ceras e de alguns ácidos que se cristalizam. Esse

processo é chamado *Winterização* (Figura 3-2, etapa 15). Quando a presença de ceras ou cristais é detectada no óleo essencial, tornando-o turvo, o mesmo deve retornar ao processo de separação nas centrífugas, a fim de eliminar essas impurezas. (TAYLOR, 2005; YAMANAKA, 2005).

Como esse processamento não utiliza calor, ao produto obtido dá-se o nome de CPOO (*Cold pressed orange oil*), óleo prensado a frio ou óleo essencial (Figura 2-17) (QUEIROZ e MENEZES, 2005; REDD *et al.*, 1996; REDD e HENDRIX, 1993).

O rendimento desse processo varia entre 1,5 e 6,5 kg/ton de fruta, sendo em média, 0,27% em massa da laranja. Essa variação se dá por diferenças no sistema de recuperação e na variedade da fruta (BOVILL, 1996; MATHEWS e BRADDOCK, 1987).

Esses óleos têm maior aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Podem ser usados diretamente para dar sabor em bebidas, produtos para padaria e confeitaria, água mineral, sorvetes e outros alimentos, e na fabricação de medicamentos e cosméticos, como sabonetes e perfumes. Há também uso como agentes mascaradores em muitos alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, incluindo aromaterapia. Também é usado para mascarar o gosto desagradável de muitos medicamentos (AHMAD e REHMAN, 2006; CROUSE, 1960; HUET, 1991; WEISS, 1997). São usados ainda pelas indústrias fabricantes de produtos de limpeza (ABECITRUS, 2009).

Há ainda subprodutos do óleo essencial, que são obtidos com a separação e concentração das suas frações aromáticas. Os óleos essenciais concentrados também são usados basicamente pela indústria alimentícia e farmacêutica (WOLFORD e ATTAWAY, 1967).

Pode-se processar a mesma variedade de fruta e se obter perfis diferentes dos compostos dos seus óleos essenciais. Essas variações são dadas por alterações nas condições do crescimento e desenvolvimento das plantas. Por exemplo, certa variedade cultivada em regiões mais chuvosas e frias pode apresentar perfil cromatográfico relativamente diferente das que foram cultivadas em regiões mais secas e quentes. A variação de chuvas, temperatura, solo etc. alteram as quantidades dos compostos presentes na casca dos frutos e posteriormente refletem-se nos óleos essenciais (GRASSI-FILHO *et al.*, 2005; PARRY, 1922).

Contudo, é fato que hidrocarbonetos monoterpênicos são a mais proeminente classe de substâncias encontradas no óleo essencial, embora a qualidade do óleo seja determinada por compostos oxigenados (4% do óleo essencial), responsável pelas características de sabor e odor, especialmente pelo conteúdo de aldeído total (DE RODRÍGUEZ *et al.*, 2003; VORA *et al.*, 1983).

Entretanto, o principal constituinte odorífero do óleo essencial de casca de *citrus* é o n-decanal, no qual foi acreditado ser o único aldeído presente então até o citral ter sido identificado. Os alcoóis 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (conhecido como linalol) e 1-nonanol são encontrados no óleo essencial de casca de laranja no estado livre e têm maior probabilidade em formar ésteres de ácido metanóico, etanóico, octanóico e decanóico (ELVIÑA e MOJICA, 2005; MATHEWS e BRADDOCK, 1987).

3.3.2.2 – LIMONENO

O limoneno (1-metil-4-isopropenilciclohex-1-eno) é o componente aromático mais expressivo em quantidade, presente na casca da laranja. É responsável pelo odor que se sente nas proximidades de uma planta de processamento de laranja. É um monoterpeneo no qual ocorre em duas formas opticamente ativas, L- e D-. É biosintetizado por muitas espécies de plantas, tais como o caso das de *citrus*, onde também é o componente principal dos óleos essenciais extraídos da casca por processamento mecânico (95% da composição do óleo de laranja) (ARIZAGA *et al.*, 2005).

Esse monoterpeneo, que faz parte do mais amplo e mais disperso dos três grupos dos produtos naturais (alcalóides, fenilpropanoides e compostos fenólicos, e terpenoides), é classificado como metabólitos secundários, cuja função pode ser ecológica, promovendo defesas contra herbívoros e patógenos, atraindo animais que dispersam pólen e sementes, ou inibindo germinação de plantas vizinhas (BOUWMEESTER *et al.*, 1999; DICKE, 1999; LANGENHEIM, 1994; PICHERSKY e GERSHENZON, 2002). Também tem ação antibacteriana (BAKKALI *et al.*, 2007; GRIFFIN *et al.*, 1999). Além disso, alguns terpenos funcionalizados também apresentam bioatividade contra certos tipos de células de tumores (CROWELL, 1999; JUN *et al.*, 2006). Nesse contexto, o interesse comercial nestes compostos está aumentando constantemente (TAKITA *et al.*, 2007).

Na fabricação de ração para gado ocorre a moagem dos resíduos (bagaços e cascas) com adição de cal virgem (Figura 3-2, etapa 19), para ajuste de pH e liberação de água. O transporte é realizado por roscas sem fim até uma série de prensas (Figura 3-2, etapa 20) onde se extrai o licor de prensagem, o “*liquor-press*”. O líquido passa por uma bateria de peneiras (Figura 3-2, etapa 21) para a remoção de sólidos e posteriormente pelo evaporador (figura 3-2, etapa 22). Na etapa de concentração (Figura 3-2, etapa 23), o limoneno é extraído no 2.º estágio de evaporação. O condensado recuperado no 2º estágio do evaporador é composto de água e limoneno. Deixado em repouso (Figura 3-2, etapa 24), ocorre a separação por decantação do limoneno (Figura 3-2, etapa 26) (YAMANAKA, 2005).

É usado, por exemplo, em solventes de resinas, borrachas, pigmentos, tintas, fabricação de adesivos, substituição de solventes clorados, limpadores de mãos e desengordurantes, tratamento de esgoto etc. (BAUER *et al.*, 2001; CREASER *et al.*, 1992). Além disso, ele é usado pela indústria farmacêutica e alimentícia como componente aromático e para dar sabor, na obtenção de sabores artificiais de menta e hortelã para fabricação de doces, balas e gomas de mascar (ELVIÑA e MOJICA, 2005; YAMANAKA, 2005).

3.3.2.3 – ESSÊNCIAS E AROMAS

Existem outros dois subprodutos onde encontramos presentes os compostos odoríferos responsáveis pelo aroma e sabor de laranja: o aroma fase aquosa (*Water-phase*) (Figura 3-2, etapa 48) e a essência fase oleosa (*Oil-phase*) (Figura 3-2, etapa 47), ambas advindas do próprio suco, separadas (volatilizadas) durante o processo de concentração do suco nos evaporadores (Figura 3-2, etapa 44).

Diversas são as utilizações ou aplicações dos aromas e essências fase aquosa e oleosa, respectivamente: flavorizantes em doces, bebidas carbonatadas e não-carbonatadas, alcoólicas e não-alcoólicas, produtos para padaria, confeitaria, água mineral, sorvetes, agentes mascaradores, perfumarias, produtos farmacêuticos, como mascaradores do gosto desagradável de alguns produtos e aromaterapia (AHMAD e REHMAN, 2006; CROUSE, 1960; HUET, 1991; WEISS, 1997).

3.4 – READIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL, ESSÊNCIA E AROMA EM SUCO CONCENTRADO

O óleo essencial, a essência e o aroma cítricos são subprodutos recuperados do processamento da laranja e alguns são re-adicionados ao suco, para devolver a ele parte do aroma e sabor originais da fruta. Esses subprodutos são considerados como partes naturais do suco, sendo assim reconhecidos como ingredientes GRAS (*Generally recognized as safe*) (REDD e HENDRIX JR., 1993), não sendo obrigada a declaração de seus nomes nos rótulos dos produtos, devendo somente constar na lista de ingredientes (ANVISA, 2002; 2004).

É comum nas indústrias brasileiras de processamento de suco de laranja a aromatização de seus produtos com essência e/ou aroma. Tal procedimento pode ser realizado na etapa de homogeneização (Figura 3-2, etapa 49). Se esse processo for individualmente empregado (por exemplo, utilizando readição só de óleo essencial, ou readição da essência fase oleosa, ou mesmo somente do aroma fase aquosa) diminui significativamente a qualidade do produto e o deixa desagradável do ponto de vista sensorial, se comparamos ao produto com ótima aceitação, o suco fresco (MOSHONAS e SHAW, 1995; 1983; REDD e HENDRIX JR., 1993; SHAW, 1977b).

As pesquisas para determinar quais compostos são responsáveis pelo aroma e sabor do suco fresco concluíram que esse perfil sensorial não é fruto de um ou alguns compostos, mas sim da interação ou combinação de muitos compostos que obtemos nas frações dos subprodutos (óleo essencial, essência fase oleosa e aroma fase aquosa) (DOUGHERTY e AHMED, 1973; NIEDZ *et al.*, 1997; SHAW, 1977a).

Segundo BETTINI (1995), NEWHALL e TING (1965); REDD e HENDRIX JR., (1993) e SHAW (1977b) em ALMEIDA (2006), o uso exclusivo para readição do aroma fase aquosa e da essência fase oleosa confere ao produto processado uma característica sensorial mais próxima ao do suco fresco. Mas, em contrapartida, há a diminuição do tempo de prateleira por alteração das qualidades sensoriais do suco com essas frações readicionadas, devido à ausência de antioxidantes naturais (como carotenóides e tocoferol) e baixa estabilidade desses produtos (SHAW, 1977b; 1977a).

Uma característica dos hidrocarbonetos terpênicos é sua facilidade em oxidar-se na presença do ar, resultando sabores indesejáveis ao suco (MATTHEWS

e BRADDOCK, 1987; VORA *et al.*, 1983). Os estudos mostraram-se importantes para contribuir com este mercado, objetivando a reedição na proporção correta de óleo essencial, aroma e essência, recuperando as notas de suco fresco ao FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*), uma vez que o óleo essencial contém antioxidantes naturais (por exemplo, carotenóides e tocoferol), e por esse motivo confere uma maior estabilidade ao suco durante seu armazenamento, retardando também a oxidação dos terpenos (ALMEIDA, 2006; BAZEMORE, 1995; BETTINI, 1995; BETTINI *et al.*, 1998; GARCIA, 2000; MOSHONAS e SHAW, 1990; NEWHALL e TING, 1965; SHAW 1977b; WOLFORD *et al.*, 1963).

Na indústria alimentícia moderna, tornou-se rotina consultar os consumidores quanto a avaliação das características sensoriais dos produtos por elas já produzidos, ou ainda em desenvolvimento, na forma como eles são percebidos. Isso se mostrou uma ferramenta importante para o desenvolvimento, manutenção, otimização, melhoria da qualidade e avaliação do potencial de mercado de um determinado produto alimentício (PIGGOT, 1995; STONE e SIDEL, 1993).

No presente trabalho, estudaremos frações da destilação de óleo essencial de laranja para a reedição em FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*), juntamente com óleo essencial de laranja e/ou óleo de laranja concentrado, com avaliação sensorial.

3.5 – COMPONENTES VOLÁTEIS

Dentre os subprodutos da laranja utilizados na elaboração de aromas, sem dúvida, o óleo essencial é o mais estudado, tendo sido identificado em sua composição mais de 220 compostos. De modo geral, esse subproduto da laranja contém predominantemente (96%) hidrocarbonetos terpênicos, dentre os quais, o D-limoneno encontra-se em maior proporção. O óleo essencial contém também cerca de 2% de aldeídos, principalmente octanal e decanal; 0,8% de alcoóis, notadamente, linalol; 0,3% de ésteres, dentre os quais se destacam os acetatos de nerila e octila; e, 1% de compostos não voláteis, dentre os quais se encontram carotenóides, tocoferóis, flavonóides, hidrocarbonetos, ácidos graxos e esteróis (MATTHEWS e BRADDOCK, 1987; SHAW, 1977b).

A respeito de estar em alta concentração no óleo essencial, o impacto odorífero do limoneno no aroma do óleo é comparável ao de muitos outros compostos voláteis presentes em concentrações muito menores (ALMEIDA, 2006; GARCIA, 2000).

3.6 – OUTRAS APLICAÇÕES PARA OS ÓLEOS ESSENCIAIS, ESSÊNCIAS E AROMAS

Os compostos voláteis presentes nos óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais são conhecidos desde a antiguidade por possuir atividade biológica, propriedades bactericida, fungicida e antioxidante (BARATTA *et al.*, 1998; BOUNATIROU *et al.*, 2007; CELIKEL e KAVAS, 2008; COSENTINO *et al.*, 1999).

Os óleos essenciais de frutas têm mostrado um importante papel inibidor contra uma ampla faixa de micróbios degradadores dos alimentos, dependendo de sua concentração, método de teste e atividade constituinte apresentada (FISHER e PHILLIPS, 2008; HERATH e ABEYWICKRAMA, 2008; TAO *et al.*, 2009). Vários óleos essenciais têm efeito inseticida e daí constituir uma importante alternativa aos produtos convencionais, baixando os índices de exposição dos alimentos a compostos sintéticos. É conhecido seu uso por causa da sua seletividade (alta toxicidade para ácaros e insetos, mas não para outros organismos vivos) e seus mínimos efeitos no meio ambiente (ISMAN, 2000; SFARA *et al.*, 2009).

De fato, os constituintes ativos existente nos óleos essenciais de *citrus* como limoneno, α -pineno, β -pineno, α -terpinoleno mostraram um amplo espectro de atividade antimicrobiana, conforme verificado nos estudos com as substâncias puras (JIROVETZ *et al.*, 2005; MAGWA *et al.*, 2006; MATASYOH *et al.*, 2007; SKOCIBUSIC *et al.*, 2006; TAO *et al.*, 2009).

A forma de aplicação dos óleos essenciais se dá similarmente aos outros inseticidas, e suas atividades biológicas são apresentadas pela exposição aos seus vapores (tensão de vapor alta e toxicidade potencial fumegante), e pela aplicação tópica (moléculas lipossolúveis que podem penetrar no inseto) (ISMAN, 2000; TARELLI *et al.*, 2009; TISSERAND e BARACS, 1995). Os compostos dos óleos essenciais sensibilizam a membrana celular, causando um aumento em permeabilidade e vazamento dos constituintes vitais intracelulares, tão bem como a

imparidade do sistema enzimático e respiração celular (CELIKEL e KAVAS, 2008; MOREIRA *et al.*, 2005; SINGH *et al.*, 2002).

3.7 – CROMATOGRAFIA

Atualmente, a cromatografia ocupa um lugar de destaque como método de separação, qualificação e quantificação de compostos. É um método físico-químico de separação onde temos uma distribuição diferencial dos componentes de uma mistura, devido a diferentes interações, em duas fases imiscíveis: a estacionária (fixa) de grande área superficial (contida na coluna cromatográfica), e a móvel que percola através dela. Divide-se basicamente, quanto ao tipo de fase móvel empregada, em dois grandes grupos: a líquida, quando a fase móvel for um líquido, e a gasosa, quando a fase móvel for um gás. Devido às várias combinações entre fases móveis e estacionárias, essa técnica é versátil e de grande aplicação (DEGANI *et al.*, 1998; LANÇAS e McNAIR, 1983).

A cromatografia a gás é um procedimento físico usado para separar uma amostra em seus componentes individuais, desde que a mistura seja volátil ou que possa ser volatilizada; e seja termicamente estável. A fase móvel é um gás inerte com alta pureza (por exemplo, hidrogênio, nitrogênio ou hélio) que tem a finalidade de transportar as moléculas através da coluna cromatográfica. As moléculas da amostra irão distribuir-se ou equilibrar-se entre o gás de arraste (fase móvel) e a fase estacionária da coluna cromatográfica. Se um composto tiver maior afinidade pela fase estacionária, demorará a chegar ao final da coluna cromatográfica, enquanto que o composto que não tiver tanta afinidade pela fase estacionária, chegará mais rapidamente ao final da coluna cromatográfica (DEGANI *et al.*, 1998; LANÇAS e McNAIR, 1983).

A injeção da amostra é feita por microseringas ou válvulas. Os detectores mais utilizados, devido a sua maior aplicação, são o de ionização de chamas (FID – *Flame ionization detector*) e o de condutividade térmica (TCD – *Thermal conductivity detector*). Os dados analíticos são registrados por uma *workstation* (DEGANI *et al.*, 1998).

As colunas cromatográficas para cromatografia gasosa têm diâmetros na faixa de 0,15 mm até 0,75 mm e comprimentos variados, normalmente entre 10 m e 100 m, sendo polares (composta, por exemplo, por polietilenoglicol), apolares

(composta, por exemplo, por metilsiloxano) ou quirais (composta, por exemplo, por ciclodextrina) (DEGANI *et al.*, 1998).

Num cromatograma encontramos duas informações importantes: os tempos de retenção dos compostos e as áreas das bandas cromatográficas. O tempo de retenção é o tempo transcorrido entre o momento da injeção da amostra e o máximo da banda cromatográfica. É característico de cada soluto, da fase estacionária, do tipo e da vazão do gás de arraste, e da temperatura da coluna cromatográfica. Devido a este último, são necessários o controle de temperatura do injetor, da coluna cromatográfica e do detector. Podemos programar a temperatura para variar no decorrer da análise cromatográfica com a finalidade de obter-se melhor resolução e bandas cromatográficas mais simétricas. Relacionamos a área das bandas cromatográficas com a concentração do composto na mistura (DEGANI *et al.*, 1998; LANÇAS e McNAIR, 1983).

3.8 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS

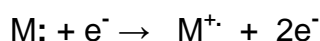
A espectrometria de massas é uma ferramenta importante no estudo das substâncias, pois fornece informações sobre a estrutura, podendo ser usada para identificar ou caracterizar substâncias orgânicas, inorgânicas, biologicamente ativas ou de estruturas complexas. A técnica utiliza uma quantidade de amostra muito menor do que em outras técnicas analíticas. A única desvantagem dessa técnica é que ela é destrutiva (BAKER, 2000; CHAPMAN, 1993; ZAMPRONIO, 2002).

O espectrômetro de massas é um equipamento analítico capaz de converter moléculas neutras ($M:$) em íons (M^+), ou seja, com carga elétrica positiva ou negativa, na fase gasosa, e separá-los de acordo com a sua razão massa/carga (m/z), utilizando para isso o estudo de sua movimentação em campos elétrico e magnético. Em sua maioria, esses equipamentos são compostos por uma fonte ionizante, analisador/analísadores e detector/detectores (DE SOUZA, 2008; VAN BRAMER, 1998).

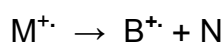
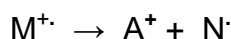
A simples ionização de uma molécula hipotética é exemplificada:



Neste trabalho foi utilizado a fonte de ionização por elétrons, também conhecida por impacto eletrônico, quando o vapor da amostra, à pressão reduzida (abaixo de 10^{-4} torr), é bombardeado por um feixe de elétrons que pode atingir a energia de 70 eV (1600 kcal). Esse fluxo de elétrons é produzido pela aplicação de um potencial elétrico em um filamento de tungstênio ou rênio. Neste tipo de ionização, a informação considerada mais importante é a detecção do íon molecular (M^+), formado pela remoção de um elétron da molécula neutra (M) (DE SOUZA, 2008; ZAMPRONIO, 2002). Hipoteticamente, temos como exemplo:



O íon molecular (M^+) é positivo e radicalar. Ele apresenta alta energia. Por ser tão instável, acaba se fragmentando ou dissociando, dando origem a íons positivos (A^+ , B^+), espécies radicalares (B^+ , N^+) ou moléculas neutras (N):



Neste trabalho foi utilizado o analisador de massas quadrupolar de íons, que consiste em quatro barras cilíndricas de aço, paralelas entre si. Nestas barras são aplicadas corrente elétrica DC e radiofrequência, gerando campo elétrico. Para algumas combinações de corrente e radiofrequência, alguns íons com determinada massa específica são estáveis, enquanto outros não. Em seu interior, os íons de determinada massa que estão dentro da região de oscilação estável conseguem manter-se em uma trajetória uniforme dentro do quadrupolo até chegarem ao detector e gerarem o sinal analítico. Mas os íons com outra massa, que não atendem essa trajetória estável (por não estarem dentro da região de oscilação estável), chocam-se com as barras do quadrupolo e são destruídos, não chegando ao detector. É proporcional a amplitude do sinal e o número de íons, quando um conjunto deles com m/z iguais colidem com o detector. Há então o registro quantitativo dos fragmentos iônicos positivos. Esses registros são apresentados na forma do espectro de massas (DE SOUZA, 2008; ZAMPRONIO, 2002).

Quanto mais estável for o íon positivo formado, mais abundante ele será e, conseqüentemente, maior será o sinal registrado no espectro. O íon mais estável é considerado com abundância de 100% e as porcentagens dos demais íons são obtidas em relação a este. O sinal correspondente ao íon mais estável é o maior do espectro, denominado pico base (DE SOUZA, 2008).

Portanto, o espectrômetro de massas possui três funções: 1) Ionizar as moléculas a serem analisadas; 2) Separar os íons produzidos de acordo com m/z dos mesmos; 3) Medir as abundâncias relativas de cada tipo de íon (DE SOUZA, 2008).

4 – PARTE EXPERIMENTAL

O óleo essencial de laranja reservado para os testes foi da produção da safra de 2009. Foram separados quarenta tambores de 173 kg cada, totalizando cerca de 6920 kg. Todas as etapas de processamento desse óleo foram realizadas nas dependências da empresa, na unidade de Araraquara - SP, inclusive as destilações, em nível industrial.

Para as análises das frações obtidas da destilação do óleo essencial de laranja, utilizou-se um CG-EM, marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2010 SE, do laboratório da USP (Universidade de São Paulo – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto), cujo responsável é o Prof. Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes.

Foram realizados dois testes identificados como TESTE1 e TESTE2.

TESTE1: Foi carregado o volume correspondente a dez tambores de óleo essencial de laranja no tanque de aquecimento da planta da destilaria, totalizando aproximadamente 1730 kg.

A bomba de vácuo, trabalhando no máximo de sua potência, registrava leitura no manômetro de 28 psi (quase 1,9 atm – negativo) no final da coluna de destilação. Foi ajustado o *set-point* da caldeira em 70°C. A válvula que controla a saída do condensado/destilado foi colocada na posição aberta a 75%.

Em relação às frações do TESTE1, foram coletadas a cada hora, em tanques diferentes do sistema de recolhimento do produto condensado (enquanto um quebrava o vácuo para a coleta, o outro o recuperava, e vice-versa), totalizando o número de quarenta e seis amostras, conforme relaciona a tabela que consta no Apêndice 1.

TESTE2: Utilizou-se a mesma quantidade do óleo essencial que o TESTE1. Os parâmetros deste teste são semelhantes aos do TESTE1, com exceção do *set-point* da caldeira, ajustado para 76°C, e a regulagem da válvula que controla a saída do condensado/destilado, colocada na posição aberta a 100%.

As treze primeiras frações foram coletadas a cada duas horas; as quatro últimas frações, a cada quatro horas. Todas as dezessete coletas foram realizadas em tanques diferentes do sistema (enquanto um quebrava o vácuo para a

coleta, o outro o recuperava, e vice-versa), e estão relacionadas na tabela que consta no Apêndice 2.

Observou-se diferença na quantidade de volume das frações descarregadas e coletadas. Para as coletas, foi descarregado totalmente o volume em recipiente apropriado, homogeneizado, e coletado uma amostra de 250 mL.

Conforme as tabelas apresentadas nos Apêndices 1 e 2, para as frações que realizamos as análises por CG-EM, preparamos suas diluições utilizando éter etílico como solvente (uma gota da fração – cerca de 8-10 mg – diluída com 1 mL de solvente). As condições cromatográficas foram ajustadas conforme a Tabela 4-1.

Tabela 4-1 – Condições cromatográficas para o Cromatógrafo a Gás

Parâmetro	Valor / Atributo
Temperatura da Coluna	40°C
Temperatura de Injeção	250°C
Modo	Split (1:100)
Pressão	87,3 kPa
Fluxo Total	160,9 mL/min
Fluxo na Coluna	1,56 mL/min
Velocidade Linear	45,1 cm/s
Rampa de Aquecimento	Manter 40°C por 3 min Aumentar 2°C/min Atingir 180°C e manter 10 min
Tempo da Corrida	83 min
Vazão de Purga	3 mL/min
Coluna Cromatográfica	BP1 (100% dimetilpolisiloxano)
Comprimento	30 m
Espessura	0,25 µm
Diâmetro	0,25 mm

As condições do Espectrômetro de Massas estavam ajustadas conforme a Tabela 4-2.

Das análises das frações obtivemos os respectivos espectros de massas para cada composto observado, e tentamos identificá-los por PBM (*Probability based matching*), buscando automaticamente por comparação estatística na Biblioteca de Dados de Espectros de Massas da Wiley⁷, utilizando o software

GCMS Solution Version 2.50 SU1, da Shimadzu Corporation. Posteriormente, obtivemos os cromatogramas TIC (*Total ion chromatogram*) para cada fração. O TIC é o cromatograma gerado a partir da soma do número total de íons detectados em cada espectro na faixa de massa varrida, plotado em função do tempo.

Tabela 4-2 – Condições para o Espectrômetro de Massas

Parâmetro	Valor / Atributo
Temperatura da Fonte de Ionização	150°C
Ionização	Ionização Eletrônica (EI)
Temperatura da Interface	250°C
Corte do Solvente	2 min
Aquisição	Scan
Eventime	0,5 s
Velocidade de Scan	1250 uma/seg
Faixa de Massa (início)	m/z = 40
Faixa de Massa (fim)	m/z = 600

Realizou-se a análise exploratória dos dados obtidos dos cromatogramas utilizando o Software Pirouette 4.0, da Infometrix. Neste procedimento foi efetuada a Análise de Componentes Principais (PCA – *Principal components analysis*), buscando uma relação entre as frações, visando a comparação entre os TESTE1 e TESTE2, e suas sistemáticas. A PCA permite uma diminuição da dimensão dos dados, possibilitando uma melhor visualização das informações por meio de gráficos de Scores (informações das amostras) e de Loadings (informações das variáveis) (RAMOS *et al.*, 1986; WOLD *et al.*, 1987).

Observando os resultados da PCA, selecionamos algumas amostras que apresentaram características peculiares para serem submetidas a testes sensoriais. Esses testes tiveram como objetivos: mensurar a capacidade dos provadores em discernir as frações quanto ao seu sabor e odor, utilizando duas concentrações diferentes (diluições) e outra amostra sem a fração (“branco”); e perceber o grau de satisfação dos provadores quanto ao FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) que tiveram as frações adicionadas.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas que constam nos Apêndices 1 e 2 foram organizadas para mostrarem a nomenclatura das frações coletadas dos TESTE1 e TESTE2, respectivamente. Constam também dados de temperatura da destilaria durante o decorrer das atividades, e quais das amostras coletadas foram analisadas por CG-EM.

5.1 – CROMATOGRAMAS OBTIDOS

De todas as frações analisadas por CG-EM, a Figura 5-1 apresenta de forma comparativa os cromatogramas das frações Am3, Am8 e Am60, até 20 minutos de análise.

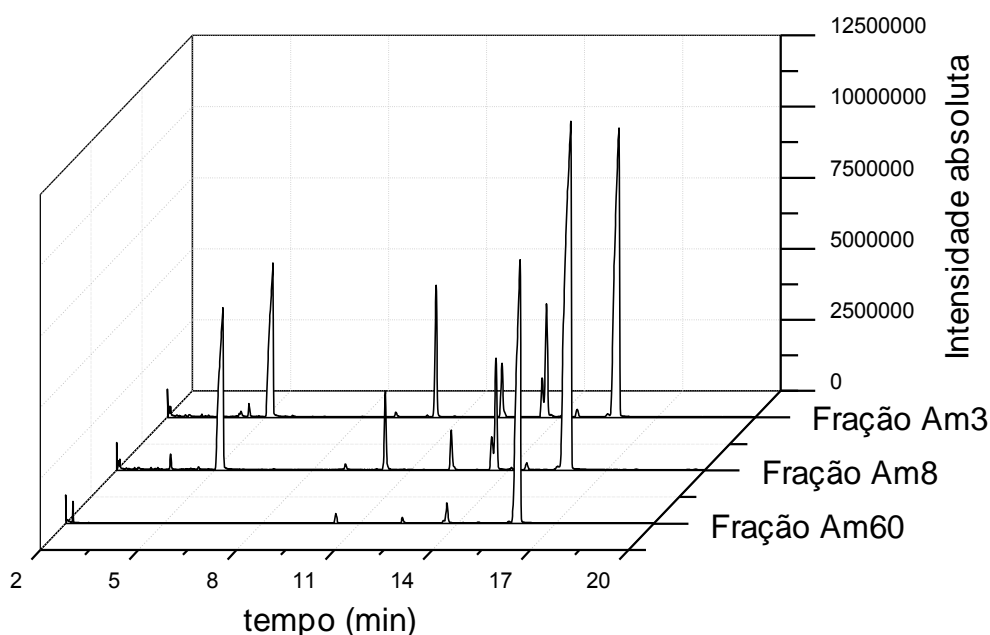


Figura 5-1: Apresentação comparativa dos cromatogramas (TIC) das frações Am3, Am8 e Am60 até 20min de análise

Estão apresentados os cromatogramas (TIC) separadamente das frações Am3, Am8 e Am60 até 83 min de análise nos Apêndices 3, 4, e 5, respectivamente.

5.2 – ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS CROMATOGRÁFICOS

Foram organizados os dados cromatográficos (intensidades absolutas e tempo de retenção) para as frações analisadas dos testes TESTE1 e TESTE2.

Realizou-se a PCA para os dados cromatográficos das frações dos dois testes em conjunto, com o pré-processamento centrado na média, ajustando o número de fatores para três, com porcentagem da variância explicada para a componente PC1 em 44,4%, para PC2 em 33,7% e para PC3, 8%; totalizando 86,1%. Verificou-se no gráfico de Scores da PC1 (44,4%) *versus* PC2 (33,7%), três agrupamentos distintos, de onde foram escolhidas as frações para compor o painel sensorial, conforme o gráfico da Figura 5-2.

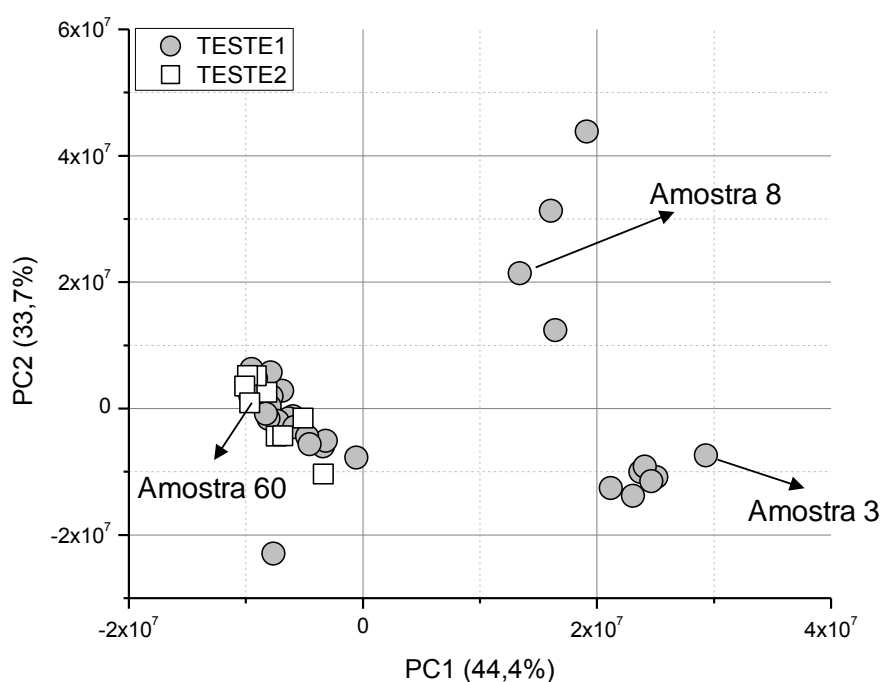


Figura 5-2 - Gráfico da disposição de PC1 *versus* PC2 para os dados cromatográficos das frações do TESTE1 e TESTE2

Na Figura 5-3 está representado o gráfico de Loadings para a PCA.

Experimentou-se realizar uma PCA separadamente para os dados cromatográficos do TESTE1, e o comportamento já mostrado com as frações conjuntas do TESTE1 e TESTE2 no gráfico da Figura 5-2 se manteve, com três agrupamentos distintos conforme apresentado em função de PC1 *versus* PC2 (Apêndice 6). Utilizou-se pré-processamento centrado na média, ajustando o número de fatores para três, com porcentagem de variância para a componente PC1 de 43,4%, para PC2 de 35,2% e para PC3 de 8,5%, totalizando 87,1%.

Realizou-se uma PCA separadamente para os dados do TESTE2 e não obtivemos resultados satisfatórios. Foi utilizado o pré-processamento centrado na média, ajustando o número de fatores para três, com porcentagem de variância explicada para a componente PC1 de 78,7%, para PC2 de 15% e para PC3 de 3,7%, totalizando 97,4%. Não conseguimos estabelecer relação entre as amostras e não percebemos agrupamentos significativos, conforme ilustra o gráfico do Apêndice 7.

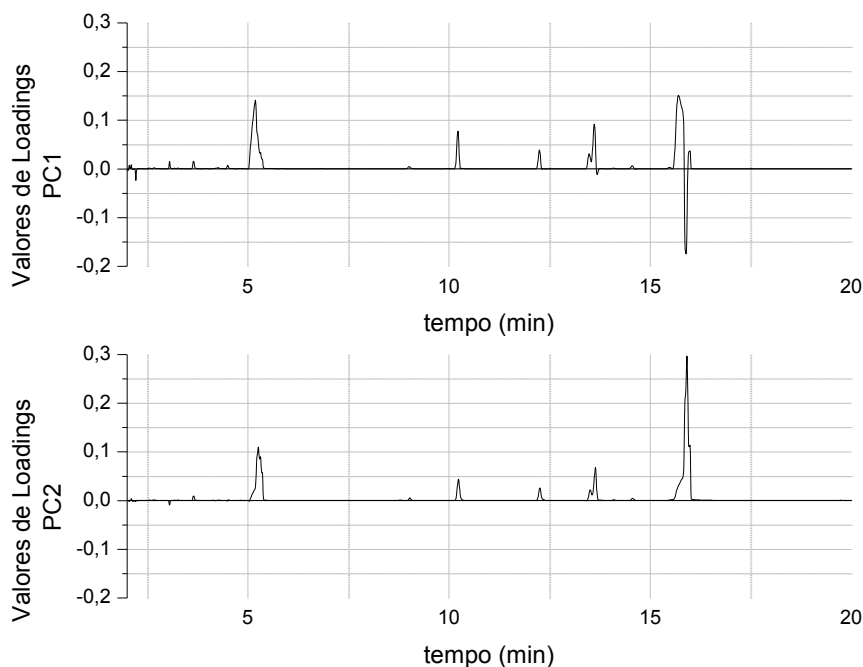


Figura 5-3 - Gráfico de Loadings para as variáveis analisadas tendo PC1 e PC2 para os dados cromatográficos das frações do TESTE1 e TESTE2

5.3 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA A ANÁLISE SENSORIAL

Utilizou-se as três frações destiladas selecionadas com base na análise exploratória da PCA, as amostras Am3, Am8 e Am60, conforme apresentado no gráfico da Figura 5-2, para compor o painel da análise sensorial. Para esse painel sensorial preparou-se as amostras/misturas conforme apresentados na Tabela 5-1.

Utilizou-se o mesmo FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) como base para o preparo, majoritariamente processado com a variedade Hamlin, tendo os seguintes valores para seus parâmetros físico-químicos:

- °Brix incorreto = 64,92; - °Brix corrigido = 65,76;
- %Acidez total (expresso como ácido cítrico) = 4,29;
- Ratio (°Brix corrigido / % Acidez total) = 15,33.

Tabela 5-1 – Apresentação dos detalhes do preparo das amostras/misturas referente às frações Am3, Am8 e Am60, para o painel sensorial

Identificação da mistura	Óleo de laranja (proporção*)		Frações (proporção*)		
	Concentrado	Essencial	Am3	Am8	Am60
A1	1		4		
B1	1	2	2		
C1	1	4			
A2	1			4	
B2	1	2		2	
C2	1	4			
A3	1				4
B3	1	2			2
C3	1	4			

(*) nesta tabela foi utilizado o conceito de proporção. Para qualquer medida que se queira utilizar (quilograma, grama, tambor, litro...) deve sempre obedecer as proporções, para um total de 5 (cinco) partes, na mistura finalizada.

Para o preparo de todas as misturas foi utilizado o mesmo óleo essencial de laranja como matéria prima, e deste mesmo produto, preparou-se o óleo concentrado de laranja e as frações coletadas nos testes TESTE1 e TESTE2.

Realizou as adições das misturas das frações Am3 (A1, B1, C1), Am8 (A2, B2, C2) e Am60 (A3, B3, C3) para quantidades de FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) suficientes para atingir o nível de 0,0100% de óleo total recuperável quando diluído a 11,8°Brix incorreto (nível considerado padrão/aceitável) – aproximadamente 1,1 g da mistura para cada 2 kg de suco concentrado a 65°Brix incorreto.

PRIMEIRO TESTE SENSORIAL: teste triangular para as misturas A1, B1 e C1. Foram oferecidas aos provadores quatro baterias de suco a 11,8°Brix, com três amostras cada. Essas amostras de suco continham as misturas adicionadas. Dentro da mesma bateria, das três amostras oferecidas, duas eram iguais. O objetivo dos avaliadores era distinguir a amostra diferente das iguais e, por comparação, pontuá-las utilizando escala hedônica estruturada, medindo seu grau de satisfação. Utilizou-se para este teste a ficha de caracterização mostrada no Apêndice 8.

SEGUNDO TESTE SENSORIAL: teste triangular para as misturas A2, B2 e C2. Mesma dinâmica do PRIMEIRO TESTE SENSORIAL. Utilizou-se para este teste a ficha de caracterização mostrada no Apêndice 9.

TERCEIRO TESTE SENSORIAL: teste triangular para as misturas A3, B3 e C3. Mesma dinâmica do PRIMEIRO TESTE SENSORIAL. Utilizou-se para este teste a ficha de caracterização no Apêndice 10.

QUARTO TESTE SENSORIAL: teste triangular para as misturas A1, A2 e A3. Mesma dinâmica do PRIMEIRO TESTE SENSORIAL. Utilizou-se para este teste a ficha de caracterização no Apêndice 11.

5.4 – RESULTADOS DA ANÁLISE SENSORIAL

Os provadores foram selecionados segundo o número de acertos em todos os testes. Os acertos/erros dos provadores estão descritos na Tabela 5-2. Foram selecionados os provadores P2, P3, P6, P8, P10 e P11.

Para esses provadores selecionados, dentro de uma mesma bateria, foram consideradas as notas de grau de satisfação somente para as amostras identificadas corretamente. Obtivemos as notas para os testes de grau de satisfação mostradas na Tabela 5-3.

Sobre a Tabela 5-3 fazemos algumas observações conclusivas.

Em relação à fração Am3 (PRIMEIRO TESTE SENSORIAL):

- quando comparada A1 e B1, os provadores preferiram B1 (linhas 1 e 3 da Tabela 5-3);
- quando comparada A1 e C1, os provadores preferiram C1 (linha 2 da Tabela 5-3);
- quando comparada B1 e C1, os provadores preferiram C1 (linha 4 da Tabela 5-3).

Portanto, a ordem decrescente de preferência para as amostras testadas da fração Am3 é C1, B1 e A1.

Em relação à fração Am8 (SEGUNDO TESTE SENSORIAL) notamos as mesmas preferências que as relatadas com a fração Am3:

- quando comparada A2 e B2, os provadores preferiram B2 (linhas 5 e 7 da Tabela 5-3);
- quando comparada A2 e C2, os provadores preferiram C2 (linha 6 da Tabela 5-3);
- quando comparada B2 e C2, os provadores preferiram C2 (linha 8 da Tabela 5-3).

A ordem decrescente de preferência das amostras testadas para a fração Am8 é C2, B2 e A2.

Tabela 5-2 – Resultados de análise sensorial para os testes triangulares de reconhecimento

Ident.	Mistura(*)	Comparativo	Provedores										
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
Am3	(A1) 4/5	(B1) 2/5	N	S	S	S	N	S	N	S	N	S	S
	(A1) 4/5	(C1) 0/5	N	S	S	N	N	S	S	S	S	S	S
	(B1) 2/5	(A1) 4/5	S	S	N	N	S	S	N	S	N	N	S
	(B1) 2/5	(C1) 0/5	N	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S
Am8	(A2) 4/5	(B2) 2/5	S	S	S	N	N	S	N	S	S	S	S
	(A2) 4/5	(C2) 0/5	S	S	S	N	S	N	S	S	S	S	S
	(B2) 2/5	(A2) 4/5	N	S	S	S	N	S	S	S	N	S	S
	(B2) 2/5	(C2) 0/5	N	S	S	N	S	N	N	S	N	S	S
Am60	(A3) 4/5	(B3) 2/5	N	N	N	S	S	S	N	S	N	S	S
	(A3) 4/5	(C3) 0/5	N	S	S	N	N	N	S	S	N	S	S
	(B3) 2/5	(A3) 4/5	N	N	N	S	N	N	N	S	S	N	S
	(B3) 2/5	(C3) 0/5	N	S	N	N	N	S	N	S	N	S	S

Ident. – Identificação da respectiva fração

N = Não houve acerto

S = Houve acerto

(*) – Identificação utilizada nesta tabela para as frações e diluições/misturas

Exemplo: (A1) 4/5 - foi utilizada a mistura A1, contendo a respectiva fração em 4 (quatro) partes para as 5 (cinco) totais na mistura

Em relação à fração Am60 (TERCEIRO TESTE SENSORIAL) notamos que foi difícil para os provedores perceberem diferenças entre as misturas. São feitas algumas observações:

- quando comparada A3 e B3, não ficou claro qual foi a preferência dos provedores, pois em um teste destacaram A3 e noutro, B3 (linhas 9 e 11 da Tabela 5-3, respectivamente). Também foi observado que houve um único acerto quando comparamos B3 a A3 (linha 11 da Tabela 5-3);
- quando comparada A3 e C3, os provedores preferiram C3 (linha 10 da Tabela 5-3);
- quando comparada B3 e C3, não houve diferença (linha 12 da Tabela 5-3).

Analisando-se as misturas de A e B para as três frações obtemos os valores de intensidade do grau de satisfação conforme mostrado na Tabela 5-4.

Tabela 5-3 – Notas para os testes triangulares de reconhecimento das frações Am3, Am8 e Am60, em suas diluições, para os provadores selecionados P2, P3, P6, P8, P10 e P11

Ident.	Linha	Mistura(*)	Comparativo	Provadores selecionados																		Média das Dif.
				P2			P3			P6			P8			P10			P11			
				F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	
Am3	1	(A1) 4/5	(B1) 2/5	3	7	-4	3	7	-4	4	7	-3	4	6	-2	3	4	-1	4	6	-2	-3,3
	2	(A1) 4/5	(C1) 0/5	3	7	-4	3	7	-4	6	7	-1	4	6	-2	1	2	-1	4	5	-1	-2,8
	3	(B1) 2/5	(A1) 4/5	8	3	5	-	-	-	4	6	-2	4	6	-2	-	-	-	6	5	1	0,3
	4	(B1) 2/5	(C1) 0/5	3	6	-3	3	7	-4	4	6	-2	4	5	-1	1	2	-1	5	6	-1	-2,5
Am8	5	(A2) 4/5	(B2) 2/5	3	7	-4	4	7	-3	6	4	2	4	6	-2	2	3	-1	5	7	-2	-1,8
	6	(A2) 4/5	(C2) 0/5	3	7	-4	4	7	-3	-	-	-	4	6	-2	1	2	-1	3	5	-2	-3,0
	7	(B2) 2/5	(A2) 4/5	7	3	4	7	4	3	6	4	2	6	4	2	2	1	1	4	5	-1	2,8
	8	(B2) 2/5	(C2) 0/5	3	7	-4	4	7	-3	-	-	-	5	6	-1	1	2	-1	5	6	-1	-2,7
Am60	9	(A3) 4/5	(B3) 2/5	-	-	-	-	-	-	6	7	-1	4	6	-2	4	3	1	4	7	-3	-1,5
	10	(A3) 4/5	(C3) 0/5	3	8	-5	4	7	-3	-	-	-	5	6	-1	2	1	1	6	7	-1	-3,0
	11	(B3) 2/5	(A3) 4/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	6	-2	-	-	-	5	7	-2	-2,0
	12	(B3) 2/5	(C3) 0/5	7	4	3	-	-	-	6	7	-1	4	6	-2	1	2	-1	5	6	-1	0,0

Ident. – Identificação da respectiva fração

F – Nota dada pelo respectivo provador para a mistura (amostra que era a diferente na comparação)

C – Nota dada pelo respectivo provador para o comparativo (amostras que eram iguais na comparação)

Dif. – Diferença das notas F e C (F – C) para os respectivos provadores

Média das Dif. – Média das diferenças das notas F e C (F – C) para um mesmo teste, entre todos os provadores

(*) – Identificação utilizada nesta tabela para as frações e diluições/misturas

Exemplo: (A1) 4/5 - foi utilizada a mistura A1, contendo a respectiva fração em 4 (quatro) partes para as 5 (cinco) totais na mistura

Tabela 5-4 – Médias dos comparativos entre as misturas A e B para as frações Am3, Am8 e Am60

Fração	Comparação	Média das Dif.	Soma das médias
Am3	Amostra A1 (F) <i>versus</i> B1 (C)	3,3	3,6
	Amostra B1 (F) <i>versus</i> A1 (C)	0,3	
Am8	Amostra A2 (F) <i>versus</i> B2 (C)	1,8	4,6
	Amostra B2 (F) <i>versus</i> A2 (C)	2,8	
Am60	Amostra A3 (F) <i>versus</i> B3 (C)	1,5	3,5
	Amostra B3 (F) <i>versus</i> A3 (C)	2	

F – Amostra que era a diferente na comparação

C – Duas amostras que eram iguais na comparação

Média das Dif. – Média das diferenças das notas F e C (F – C) para um mesmo teste, entre todos os provadores

Analisando a Tabela 5-4 percebemos que houve um pequeno aumento da média referente à fração Am8, mostrando uma pequena elevação do grau de satisfação para esta mistura, em especial. Nota-se também que a mistura/diluição preferencial desta fração (Am8) foi a B2.

Realizou-se o teste comparativo entre as misturas A1, A2 e A3 (QUARTO TESTE SENSORIAL), com os resultados de acertos/erros conforme a Tabela 5-5. Selecionamos os provadores P2, P3, P5, P7, P8, P9 e P11.

Tabela 5-5 - Resultados de análise sensorial para os testes triangulares de reconhecimento das misturas A1, A2 e A3, das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente

Mistura*	Comparativo	Provadores										
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
(A1) 4/5	(A2) 4/5	S	S	S	N	S	N	S	S	S	S	S
(A1) 4/5	(A3) 4/5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	N	S
(A2) 4/5	(A3) 4/5	N	S	S	N	S	S	S	S	S	N	S

N = Não houve acerto

S = Houve acerto

(*) – Identificação utilizada nesta tabela para as frações e diluições/misturas

Exemplo: (A1) 4/5 - foi utilizada a mistura A1, contendo a respectiva fração em 4 (quatro) partes para as 5 (cinco) totais na mistura

Foram comparadas entre si as misturas A1, A2 e A3 das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente, apresentando os resultados das notas para o grau de satisfação dos provadores na Tabela 5-6.

Os comparativos entre as misturas A1, A2 e A3 das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente, mostraram que há uma tendência dos provadores preferirem, em ordem decrescente, A3 em relação a A2 e A1.

5.5 – ESPECTROS DE MASSAS

Organizou-se os espectros de massas das análises das frações Am3, Am8 e Am60.

Para a fração Am3 apresentamos os espectros de massas nos Apêndices 12 a 17. Para a fração Am8 apresentamos os espectros nos Apêndices 18 a 21, e para a fração Am60 apresentamos nos Apêndices 22 e 23.

Algumas bandas cromatográficas foram identificadas por PBM (*Probability based matching*), buscando automaticamente por comparação estatística em biblioteca de espectros segundo a Biblioteca de Dados de Espectro de Massas da Wiley⁷.

5.6 – ESPECTROS DE MASSAS E ANÁLISE EXPLORATÓRIA

Analisando comparativamente os gráficos das Figuras 5-2 e 5-3, apresentamos a relação entre os Scores e os Loadings para as frações.

As frações que compõem o grupo da Am3 têm Scores positivos para PC1 e PC2; no gráfico de Loadings aquelas bandas cromatográficas com valores de Loadings positivos para PC1 e PC2 correlacionam-se diretamente com essas amostras. Esses sinais correspondem aos tempos de retenção 5,185 min (PC1) e 5,258 min (PC2), 10,225 min (PC1) e 10,233 min (PC2), 13,617 min (PC1) e 13,642 min (PC2), e 15,708 min (PC1) e 15,917 min (PC2) e podem ser relacionados com altas concentrações dos compostos, conforme apresentado na Tabela 5-7.

Tabela 5-6 - Notas para os testes triangulares de reconhecimento das misturas A1, A2 e A3, das frações Am3, Am8 e Am60, respectivamente, para os provadores selecionados P2, P3, P5, P7, P8, P9 e P11

Fração	Comparativo	Provadores selecionados																					Média das Dif.			
		P2			P3			P5			P7			P8			P9			P11						
		F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.	F	C	Dif.				
Am3 (A1)	Am8 (A2)	4	7	-3	3	7	-4	6	4	2	4	5	-1	4	6	-2	7	8	-1	4	6	-2				-1,6
Am3 (A1)	Am60 (A3)	3	8	-5	3	7	-4	8	4	4	4	5	-1	4	6	-2	6	7	-1	5	7	-2				-1,6
Am8 (A2)	Am60 (A3)	3	7	-4	3	7	-4	6	4	2	4	5	-1	4	6	-2	8	7	1	4	6	-2				-1,4

F – Nota dada pelo respectivo provador para a mistura (amostra que era a diferente na comparação)

C – Nota dada pelo respectivo provador para o comparativo (amostras que eram iguais na comparação)

Dif. – Diferença das notas F e C (F – C) para os respectivos provadores

Média das Dif. – Média das diferenças das notas F e C (F – C) para um mesmo teste, entre todos os provadores

Tabela 5-7 – Relação entre os tempos de retenção com PC1 e PC2, e os compostos identificados por PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas

Frações						Composto identificado
Am3		Am8		Am60		
TR (PC1)	TR (PC2)	TR (PC1)	TR (PC2)	TR (PC1)	TR (PC2)	
5,185	5,258	5,185	5,258	---	---	Indefinido
10,225	10,233	10,225	10,233	---	---	alfa-pineno
13,617	13,642	13,617	13,642	---	---	beta-mirceno
15,708	15,917	15,708	15,917	15,892	---	D-limoneno

TR – Tempo de retenção, em minutos, para as bandas cromatográficas da respectiva fração

Para as frações que compõem o grupo da Am8, que têm Scores positivos para PC1 e negativos para PC2, podemos visualizar que os tempos de retenção indicados anteriormente também são característicos deste grupo de amostras.

Já para as frações que compõem o grupo da Am60, que possuem predominantemente Scores negativos para PC1 e PC2, estão relacionados com o tempo de retenção 15,892min (PC1), correspondente ao composto D-limoneno.

5.7 – IDENTIFICAÇÃO DAS BANDAS CROMATOGRÁFICAS ATRAVÉS DOS ESPECTROS DE MASSAS

Algumas bandas cromatográficas foram identificadas por PBM (*Probability based matching*), e são mostrados na tabela das Figuras 5-4, 5-5 e 5-6.

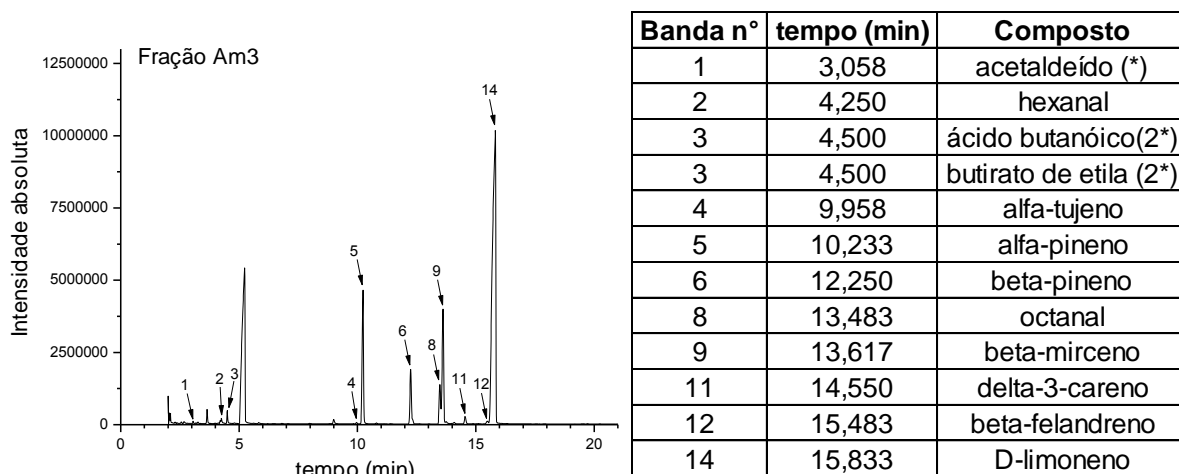


Figura 5-4 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am3 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas

(*) Para a banda cromatográfica n° 1, com tempo de retenção 3,058 min, obtivemos a identificação da substância como acetaldeído, mas não podemos afirmar com certeza que realmente esse é o composto, pois a varredura de m/z começou em 40, e esse composto possui sinais de fragmentos abaixo deste valor.

(2*) Para a banda cromatográfica n° 3, com tempo de retenção 4,500 min, obtivemos a identificação da substância em ácido butanóico e butirato de etila (ambos não constam na literatura como constituintes do óleo essencial de laranja). Devido às baixas concentrações, às diluições, e posteriormente ao baixo número de íons formados pelo impacto eletrônico (EI), esses fatores somaram para tornar esse espectro de massas insuficiente para a confiabilidade da identificação dessas substâncias.

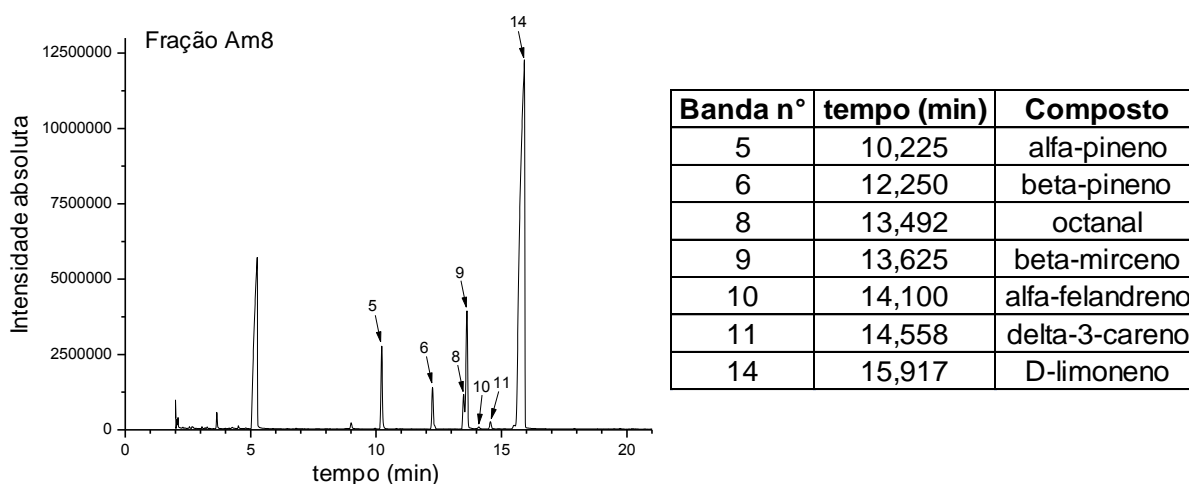


Figura 5-5 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am8 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas

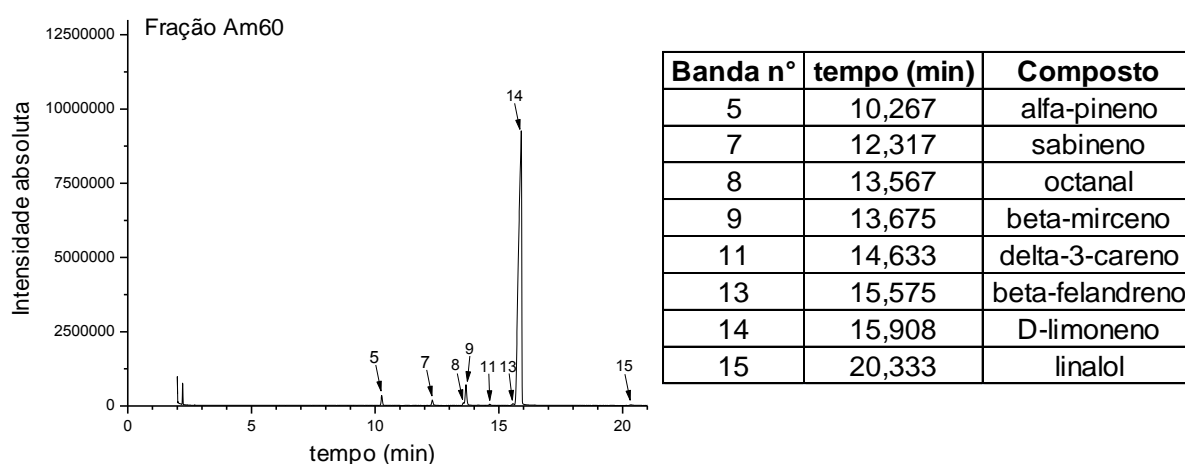


Figura 5-6 – Apresentação do cromatograma (TIC) da fração Am60 apresentando as bandas cromatográficas identificadas por PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas

Para as figuras 5-4, 5-5 e 5-6, dados como probabilidade frente à identificação feita por PBM (*Probability based matching*), compostos descritos na literatura como constituintes do óleo essencial de laranja e as intensidades relativas de cada banda cromatográfica identificada são mostrados na tabela dos Apêndices 24, 25 e 26, respectivamente.

No Apêndice 27 é apresentada a relação dos compostos identificados por PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas, separados por fração e seus valores de intensidades relativas.

No Apêndice 28, organizamos as referências bibliográficas consultadas para verificação da existência ou não de cada composto identificado, como constituinte do óleo essencial de laranja, apresentados nas Figuras 5-4, 5-5 e 5-6.

5.8 – ESTUDO DOS ESPECTROS DE MASSAS EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Para os compostos identificados nas análises por CG-EM das frações analisadas Am3, Am8 e Am60, apresentamos seus espectros de massas em comparação com os espectros da literatura. Utilizou-se como referência de espectros a biblioteca NIST (2011) de acesso público na Internet, e HOUSE e ROAD (1991). Os compostos foram organizados em ordem alfabética.

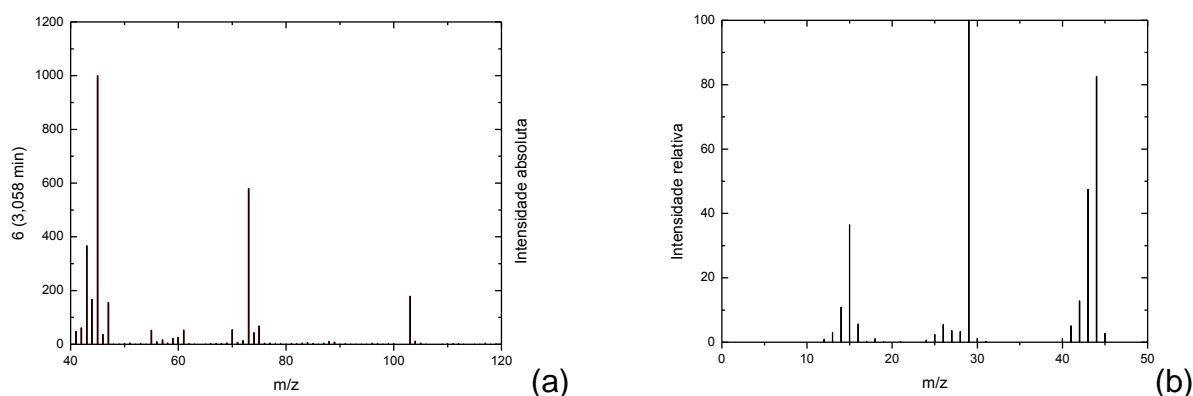


Figura 5-7 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto acetaldeído da fração Am3

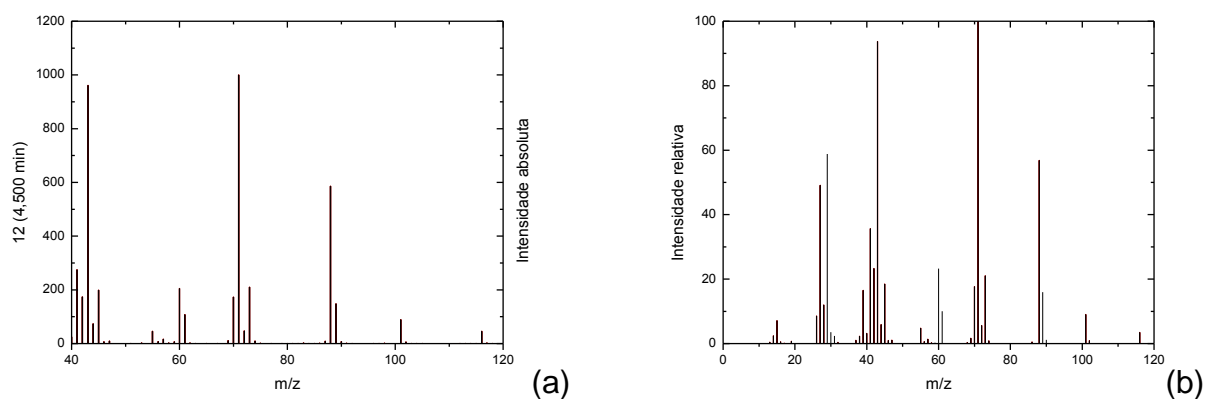


Figura 5-8 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto ácido butanóico / butirato de etila da fração Am3

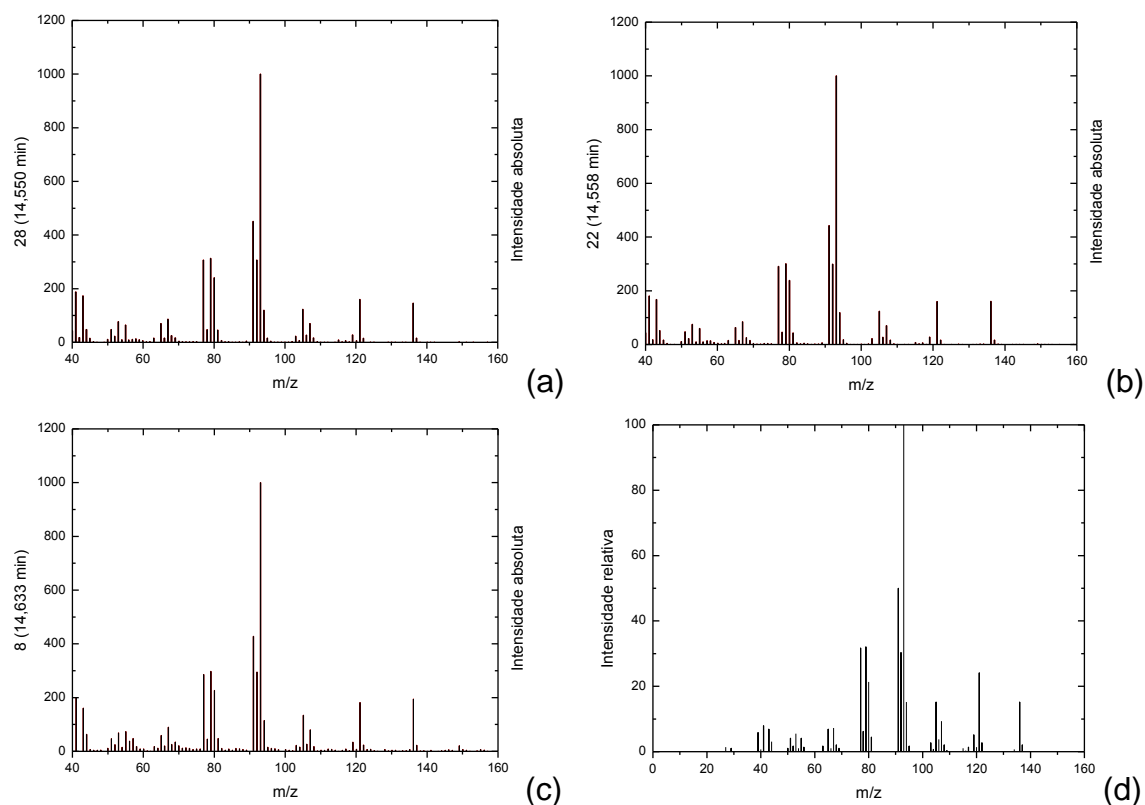


Figura 5-9 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto Δ -3-careno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)

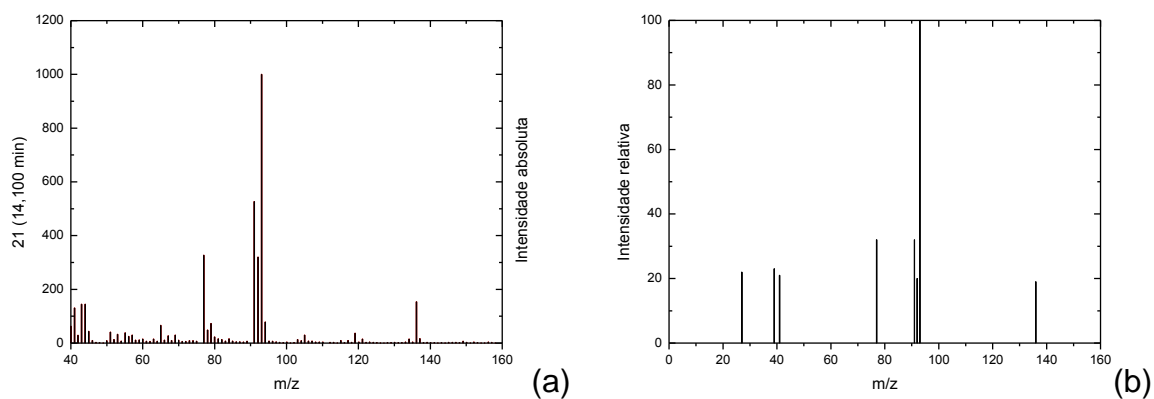


Figura 5-10 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (HOUSE e ROAD, 1991) para o composto α -felandreno da fração Am8

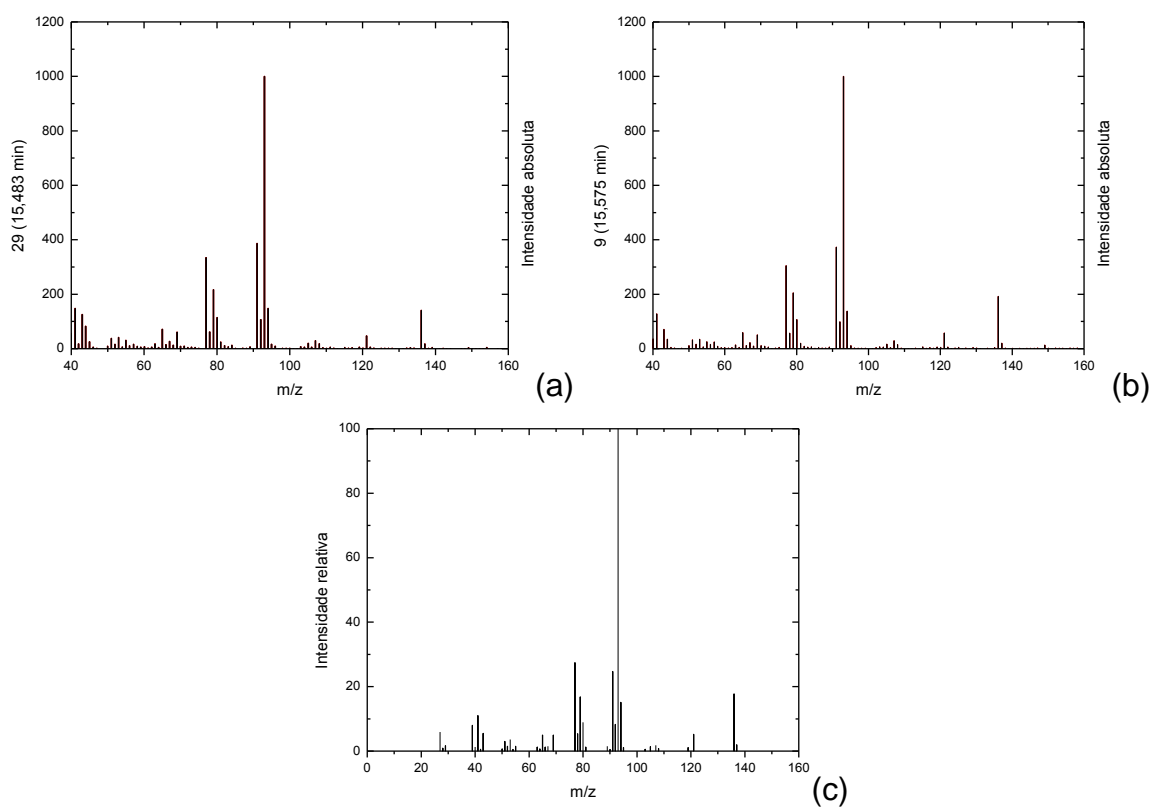


Figura 5-11 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (c) (NIST, 2011) para o composto β -felandreno das frações Am3 (a) e Am60 (b)

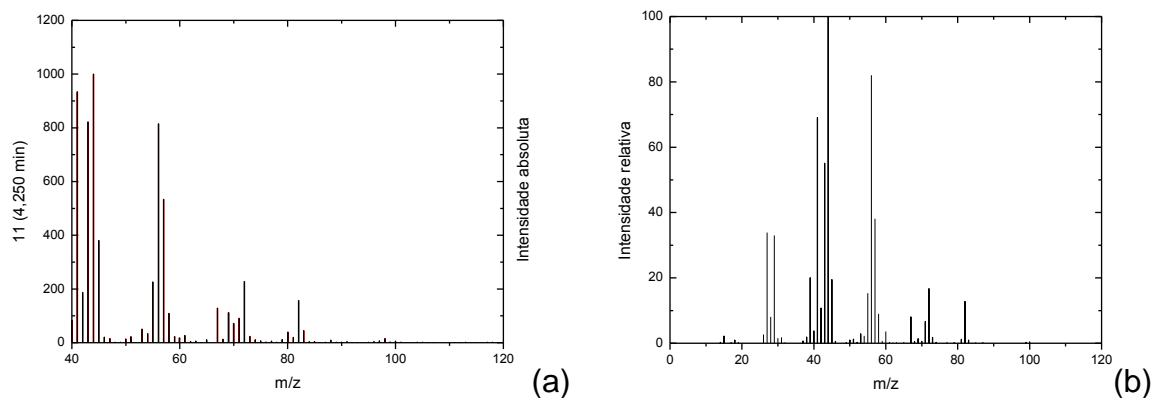


Figura 5-12 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto hexanal da fração Am3

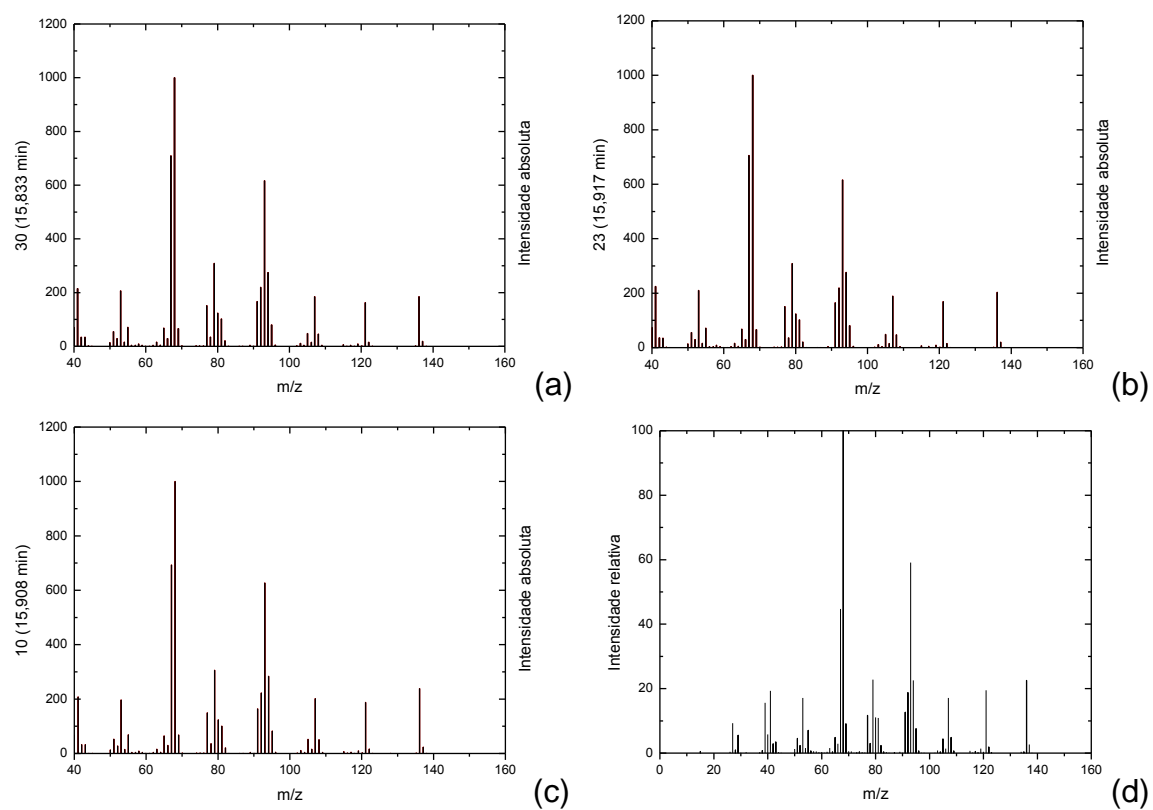


Figura 5-13 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto D-limoneno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)

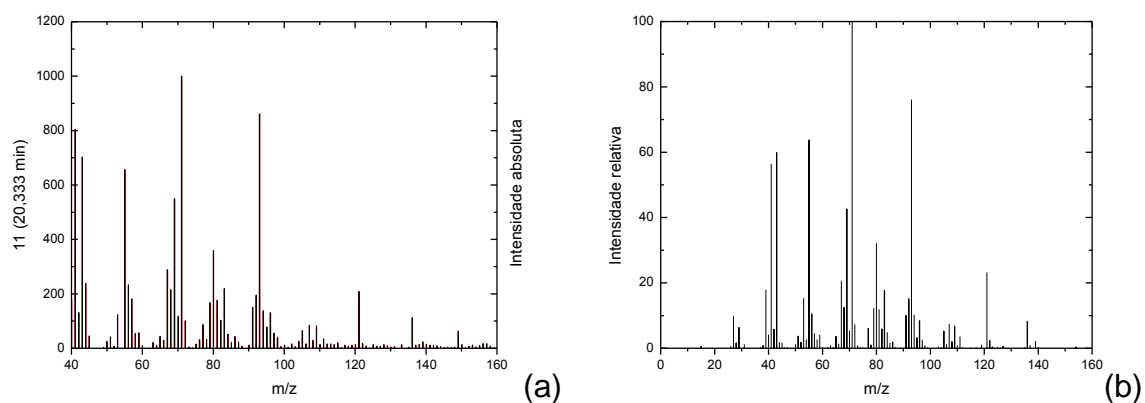


Figura 5-14 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto linalol da fração Am60

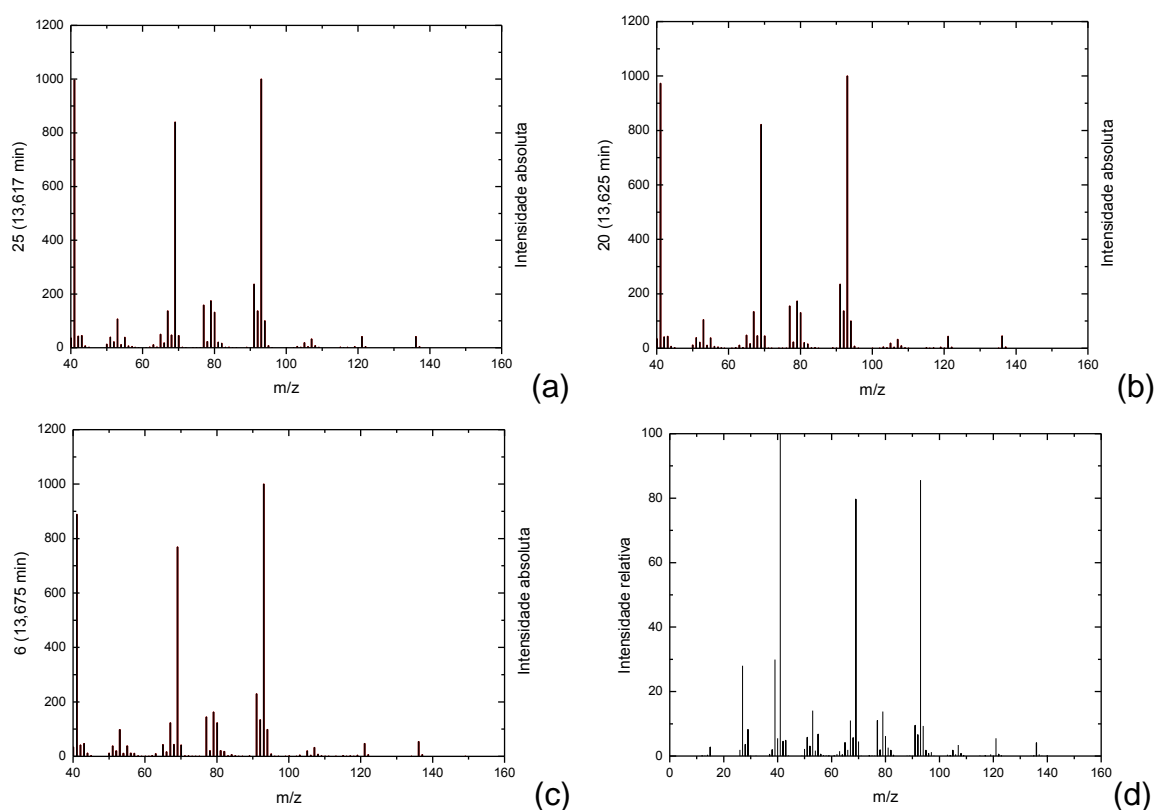


Figura 5-15 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto β -mirceno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)

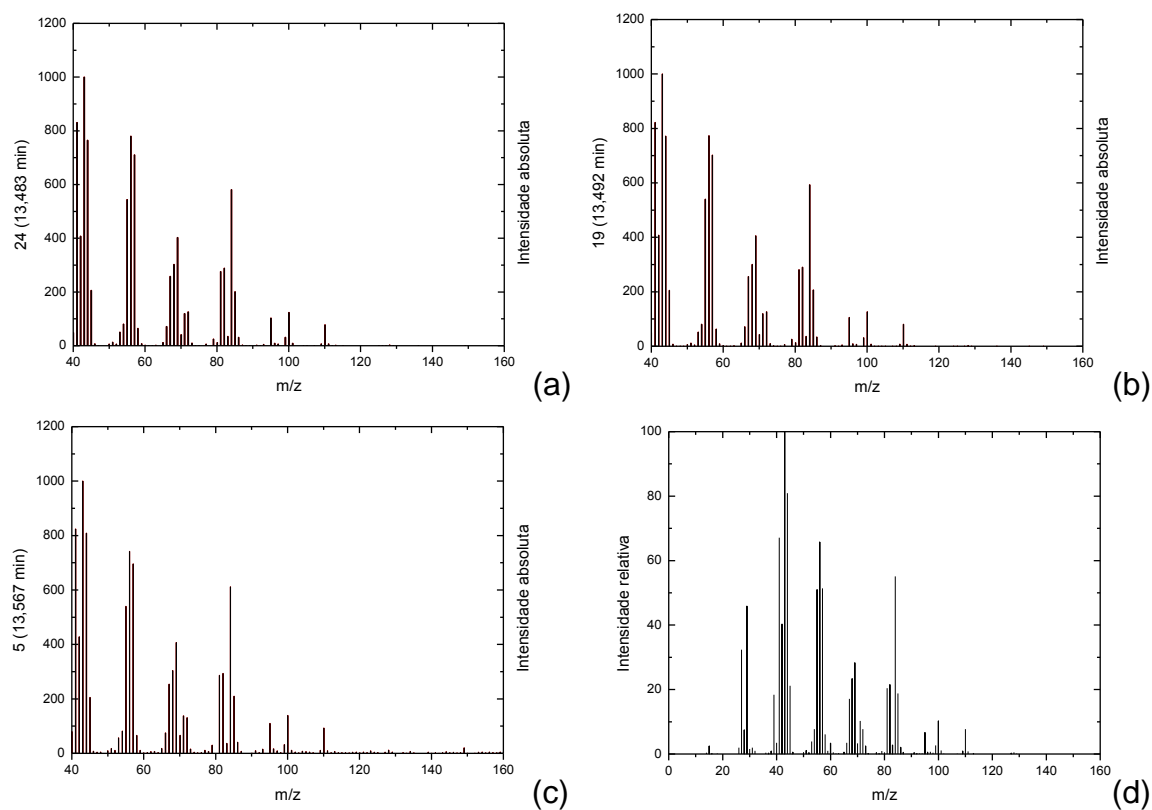


Figura 5-16 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto octanal das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)

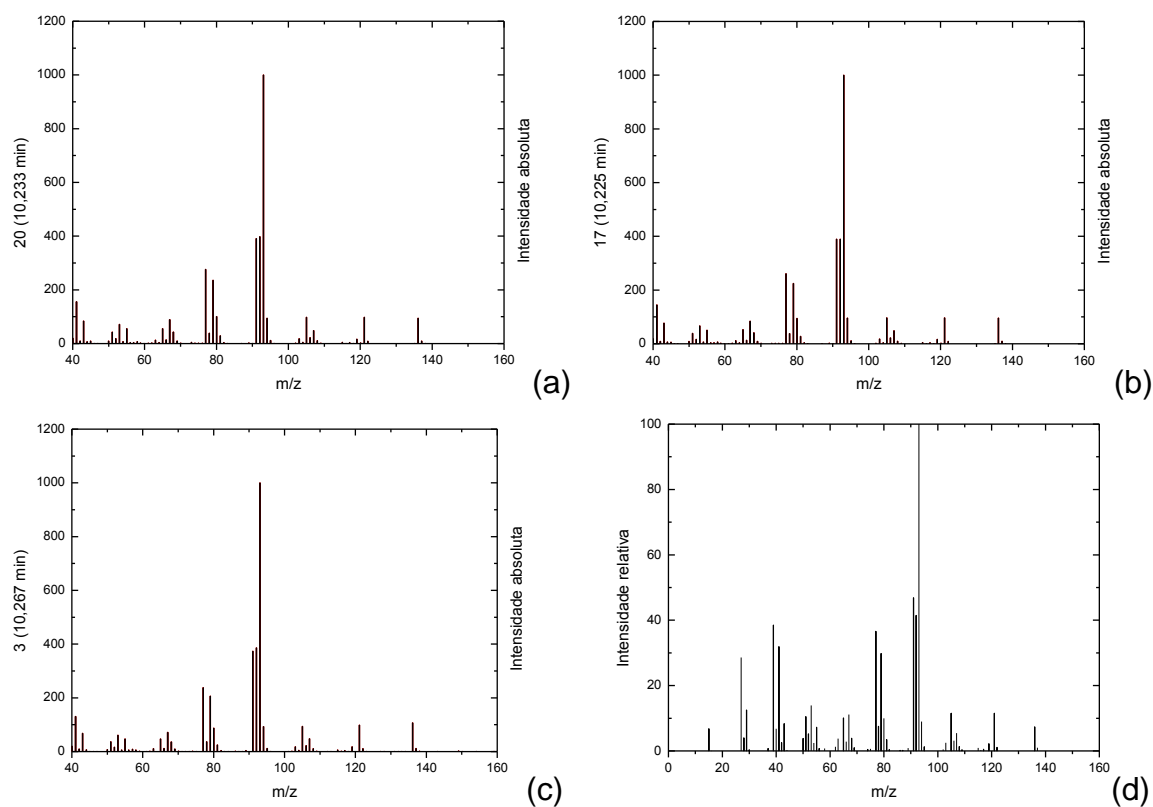


Figura 5-17 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (d) (NIST, 2011) para o composto α -pineno das frações Am3 (a), Am8 (b) e Am60 (c)

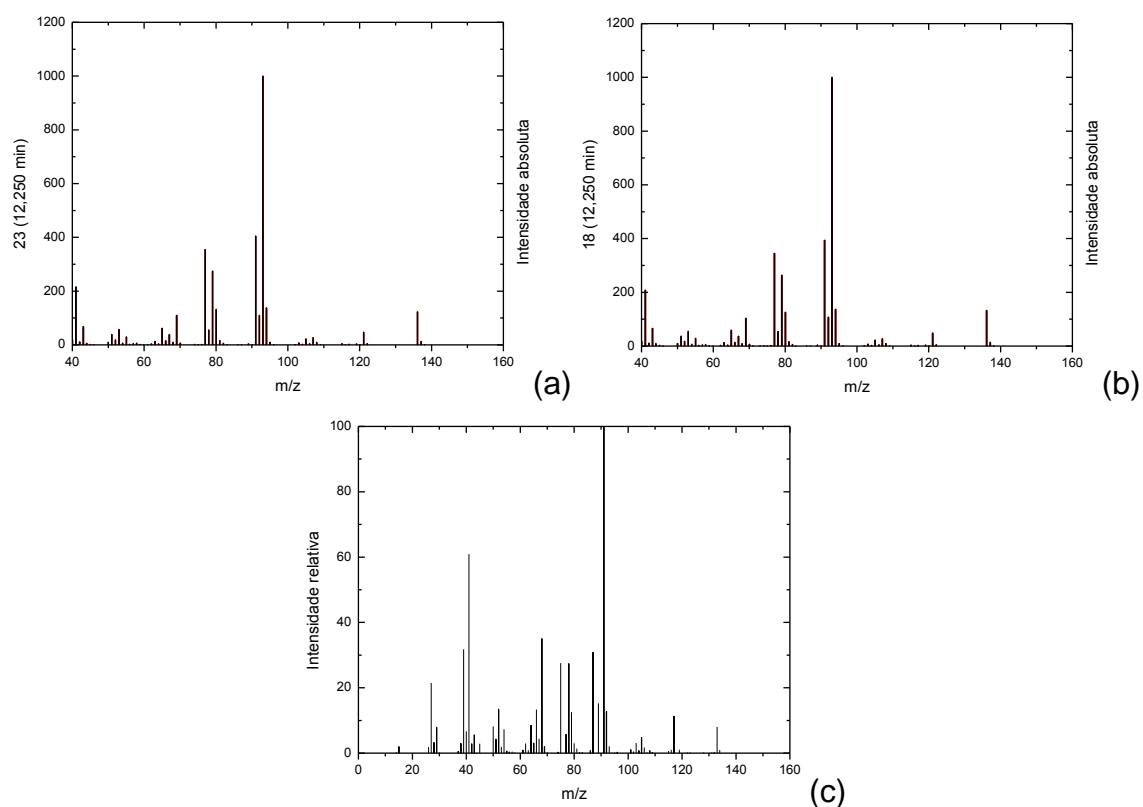


Figura 5-18 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinados e o da literatura (c) (NIST, 2011) para o composto β -pineno das frações Am3 (a) e Am8 (b)

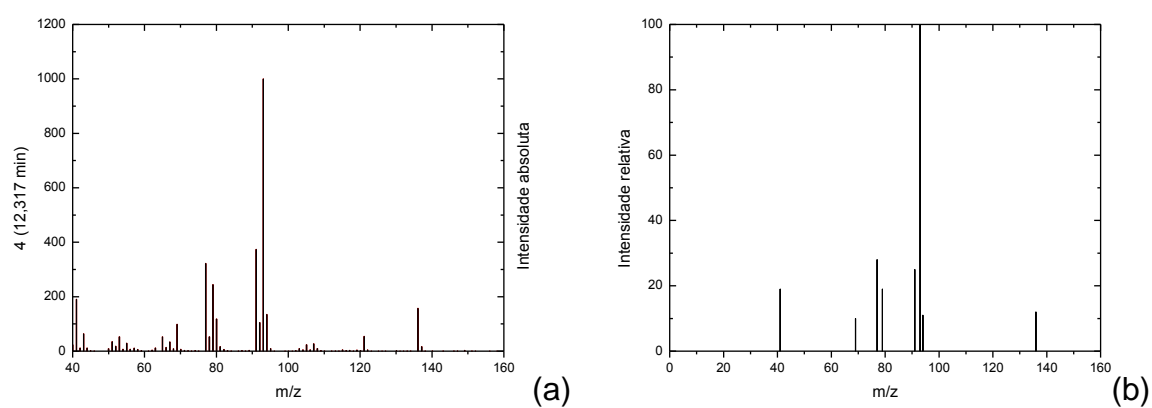


Figura 5-19 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (HOUSE e ROAD, 1991) para o composto sabineno da fração Am3

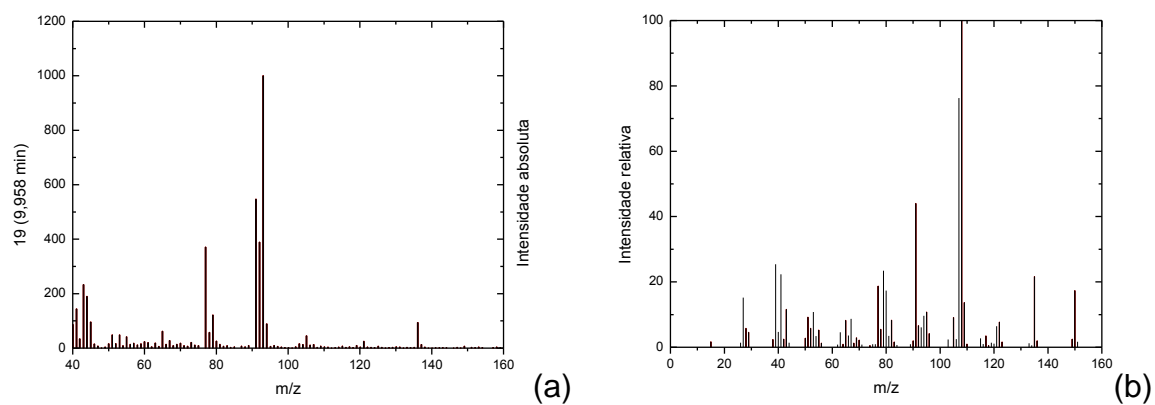


Figura 5-20 – Apresentação do comparativo entre os espectros de massas determinado (a) e o da literatura (b) (NIST, 2011) para o composto α -tujeno da fração Am3

6 – CONCLUSÃO

Podemos concluir pela análise exploratória dos dados cromatográficos:

- que as frações Am2, Am3, Am6, Am7, Am9, Am11 e Am12 têm perfis semelhantes entre si, caracterizando um agrupamento conforme o gráfico da Figura 5-2.

- que as frações Am4, Am5, Am8 e Am10 também apresentaram perfis diferenciados das demais e semelhantes entre si, caracterizando agrupamento segundo o gráfico da Figura 5-2.

- que as amostras de Am13 a Am66 (do TESTE1 e TESTE2) apresentaram perfis também semelhantes conforme o gráfico da Figura 5-2.

Verificando os perfis cromatográficos das frações, os compostos identificados e suas quantidades, concluímos que o início do TESTE1 privilegia alguns compostos e suas quantidades, em detrimento de outros, se compararmos com o TESTE2. O TESTE1 foi realizado com o objetivo de propiciar uma destilação mais lenta, com a temperatura de aquecimento menor (70°C) e a regulação da válvula do fim da coluna de destilação mais fechada (aberta 75%). Isso mostrou que conseguimos obter algumas frações diferentes que despertaram certo grau de satisfação frente aos provadores e provavelmente caracterizam possíveis novos produtos para a empresa de alimentos e bebidas.

No TESTE1, das frações iniciais até a Am12, provavelmente todas possuem compostos mais leves que são separados/destilados devido às condições de *set-up* do teste. Mesmo sem termos conseguido identificar com clareza a maioria dessas bandas cromatográficas até o tempo de retenção 9 (nove) minutos aproximadamente (somente conseguimos identificar os compostos acetaldeído, hexanal e ácido butanóico / butirato de etila), mas avaliando os perfis cromatográficos, certamente todas elas contribuem significativamente com o perfil sensorial dessas frações, pois se apresentam em quantidades consideráveis. Com certeza têm grande importância no sabor e no odor dessas frações (ALMEIDA, 2006; GARCIA, 2000).

A partir da fração Am13, todas elas apresentaram perfis parecidos às frações do TESTE2, realizado em condição mais enérgica. Vemos que neste conjunto de frações semelhantes não aparecem aqueles compostos relativamente mais leves, como no caso da fração Am3, e alguns da fração Am8; ou mesmo se aparecem, estão numa concentração mais baixa. Daí entendermos que não difere

muito em sabor e odor do próprio óleo essencial de laranja (preparo das misturas na Tabela 5-1), visto que até aproximadamente 9 (nove) minutos, as amostras têm perfis pobres em bandas cromatográficas. Mesmo para os provadores não houve um grau de satisfação notável (Tabela 5-3, Linha 12) em comparação com o suco considerado padrão. Isso leva a concluir que as condições do TESTE2 privilegiam somente a obtenção do óleo concentrado, não conseguindo fazer uma boa separação das frações destiladas e, por consequência, não conseguindo frações mais nobres do ponto de vista sensorial.

Vemos que a fração Am3, representante do grupo das frações Am2, Am3, Am6, Am7, Am9, Am11 e Am12, apresentou certa aceitabilidade frente aos provadores, conforme apresentado na Tabela 5-4.

Representante do grupo das frações Am4, Am5, Am8 e Am10, a fração Am8 também apresentou certa aceitabilidade aos provadores, diferente da fração Am3, conforme mostrado na Tabela 5-4.

As demais frações, de Am13 a Am66 (TESTE1 e TESTE2) não apresentaram diferenças significativas em relação ao que já conhecemos como produto padrão, conforme mostra a Tabela 5-3. A princípio, estas frações não teriam importância econômica, pois elas substituem o óleo essencial de laranja no suco concentrado, sem trazer nenhum ganho sensorial significativo. Se verificarmos as duas situações, do suco concentrado adicionado a fração Am60, e o que é considerado como padrão (com adição normal de óleo essencial e concentrado de laranja), faremos opção pela condição do padrão, haja vista que ganhamos em relação ao tempo de prateleira do produto, já que o óleo essencial possui também antioxidantes naturais (por exemplo, carotenóides e tocoferol). No produto com adição da fração Am60 acaba ocorrendo alterações da qualidade sensorial durante seu armazenamento, diminuindo sua validade, devido à sua baixa estabilidade. (SHAW, 1977a; 1977b)

O teste sensorial organizado para as frações teve como finalidade mostrar que é possível perceber diferenças, em termos sensoriais, entre as frações Am3, Am8 e Am60, representante dos três grupos que se apresentaram nos resultados da análise exploratória dos dados. Possivelmente poderíamos aumentar o grau de satisfação dos provadores testando outras concentrações/diluições.

Os dados referentes ao grau de satisfação para o teste sensorial não apresentaram grandes diferenças, provavelmente pelos provadores não estarem

acostumados a utilizarem a escala hedônica estruturada, que pontuava os graus de satisfação para as amostras testadas.

Pelo histórico de clientes, avaliando suco das prateleiras dos vários países onde são comercializados FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*) e comparando com uma coleção de essências e aromas que a empresa mantém, o sabor e o odor das frações Am3 e Am8 é semelhante a esses produtos. Nós, brasileiros, não estamos acostumados a fazer uso diariamente de FCOJ (*Frozen concentrated orange juice*), por ser facilmente acessível adquirir a própria fruta, processá-la, e ainda ter menor custo. Já em alguns outros países, o contato com a laranja é muito mais freqüente através dos sucos concentrado congelado e embalados, fazendo com que o paladar desse perfil de consumidor tenha mais afinidade por sucos com adição de essências e aromas. Para o mercado externo o produto com adição da Am3 e Am8 possivelmente tem potencial de venda, agregando valor à essas frações do teste.

7 – APÊNDICES

Apêndice 1 - Dados coletados dos controles da destilaria e a nomenclatura para as frações do TESTE1

Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
26/04/2010	07:50	46	13	-	-
26/04/2010	08:00	53	20	-	-
26/04/2010	08:00	66	22	-	-
26/04/2010	08:00	66	22	-	-
26/04/2010	08:13	62	23	-	-
26/04/2010	08:23	66	22	-	-
26/04/2010	08:33(*)	70	20	-	-
26/04/2010	08:52	72	18	-	-
26/04/2010	09:06	73	15	-	-
26/04/2010	09:27	73	12	Am1	Sim
26/04/2010	09:40	72	12	-	-
26/04/2010	09:55	72	42	-	-
26/04/2010	10:00	72	47	-	-
26/04/2010	10:00	72	47	-	-
26/04/2010	10:05	71	42	-	-
26/04/2010	10:15	71	42	-	-
26/04/2010	10:35	71	43	Am2	Sim
26/04/2010	10:52	70	33	-	-
26/04/2010	11:11	70	47	-	-
26/04/2010	11:20	72	47	-	-
26/04/2010	11:35	74	46	Am3	Sim
26/04/2010	11:51	74	46	-	-
26/04/2010	12:00	73	47	-	-
26/04/2010	12:00	73	47	-	-
26/04/2010	12:06	73	46	-	-
26/04/2010	12:17	73	48	-	-
26/04/2010	12:35	73	45	Am4	Sim

Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
26/04/2010	12:48	72	48	-	-
26/04/2010	13:35	-	-	Am5	Sim
26/04/2010	13:59	71	48	-	-
26/04/2010	14:00	70	48	-	-
26/04/2010	14:00	70	48	-	-
26/04/2010	14:20	70	48	-	-
26/04/2010	14:35	72	50	Am6	Sim
26/04/2010	14:50	73	50	-	-
26/04/2010	15:00	74	50	-	-
26/04/2010	15:10	74	50	-	-
26/04/2010	15:35	73	50	Am7	Sim
26/04/2010	16:00	70	50	-	-
26/04/2010	16:00	70	50	-	-
26/04/2010	16:05	72	51	-	-
26/04/2010	16:40	71	51	Am8	Sim
26/04/2010	17:00	71	50	-	-
26/04/2010	17:25	70	51	Am9	Sim
26/04/2010	18:00	69	51	-	-
26/04/2010	18:35	70	50	Am10	Sim
26/04/2010	19:35	-	-	Am11	Sim
26/04/2010	20:00	70	49	-	-
26/04/2010	20:35	71	48	Am12	Sim
26/04/2010	21:35	71	48	Am13	Sim
26/04/2010	22:00	73	47	-	-
26/04/2010	22:35	73	44	Am14	Sim
26/04/2010	23:35	-	-	Am15	Sim
27/04/2010	00:00	73	38	-	-
27/04/2010	00:35	-	-	Am16	Sim
27/04/2010	01:35	-	-	Am17	Sim
27/04/2010	02:00	69	45	-	-

Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
27/04/2010	02:35	69	44	Am18	Sim
27/04/2010	03:35	-	-	Am19	Sim
27/04/2010	04:00	71	43	-	-
27/04/2010	04:35	-	-	Am20	Sim
27/04/2010	05:35	-	-	Am21	Sim
27/04/2010	06:00	72	38	-	-
27/04/2010	06:35	-	-	Am22	Sim
27/04/2010	07:20	72	40	-	-
27/04/2010	07:35	70	40	Am23	Sim
27/04/2010	08:00	8	69	-	-
27/04/2010	08:35	73	43	Am24	Sim
27/04/2010	09:00	74	42	-	-
27/04/2010	09:15	74	42	-	-
27/04/2010	09:35	73	42	Am25	Não
27/04/2010	10:00	71	46	-	-
27/04/2010	10:20	72	44	-	-
27/04/2010	10:35	71	46	Am26	Sim
27/04/2010	11:05	70	48	-	-
27/04/2010	11:35	72	49	Am27	Não
27/04/2010	12:00	70	48	-	-
27/04/2010	12:10	74	51	-	-
27/04/2010	12:35	-	-	Am28	Sim
27/04/2010	13:35	-	-	Am29	Não
27/04/2010	14:00	70	50	-	-
27/04/2010	14:35	-	-	Am30	Sim
27/04/2010	15:35	-	-	Am31	Não
27/04/2010	16:00	70	51	-	-
27/04/2010	16:35	-	-	Am32	Sim
27/04/2010	17:35	-	-	Am33	Não
27/04/2010	18:00	70	45	-	-

Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
27/04/2010	18:35	-	-	Am34	Sim
27/04/2010	19:35	-	-	Am35	Não
27/04/2010	20:00	69	44	-	-
27/04/2010	20:35	-	-	Am36	Sim
27/04/2010	21:35	-	-	Am37	Não
27/04/2010	22:00	70	42	-	-
27/04/2010	22:35	-	-	Am38	Sim
27/04/2010	23:35	-	-	Am39	Não
28/04/2010	00:35	-	-	Am40	Sim
28/04/2010	01:35	-	-	Am41	Não
28/04/2010	02:00	70	39	-	-
28/04/2010	02:35	-	-	Am42	Sim
28/04/2010	03:35	-	-	Am43	Não
28/04/2010	04:00	70	39	-	-
28/04/2010	04:35	-	-	Am44	Sim
28/04/2010	05:35	-	-	Am45	Não
28/04/2010	06:00	72	40	-	-
28/04/2010	06:35	-	-	Am46	Sim
28/04/2010	07:35	70	39	-	-

(*) – horário do início da presença de destilado

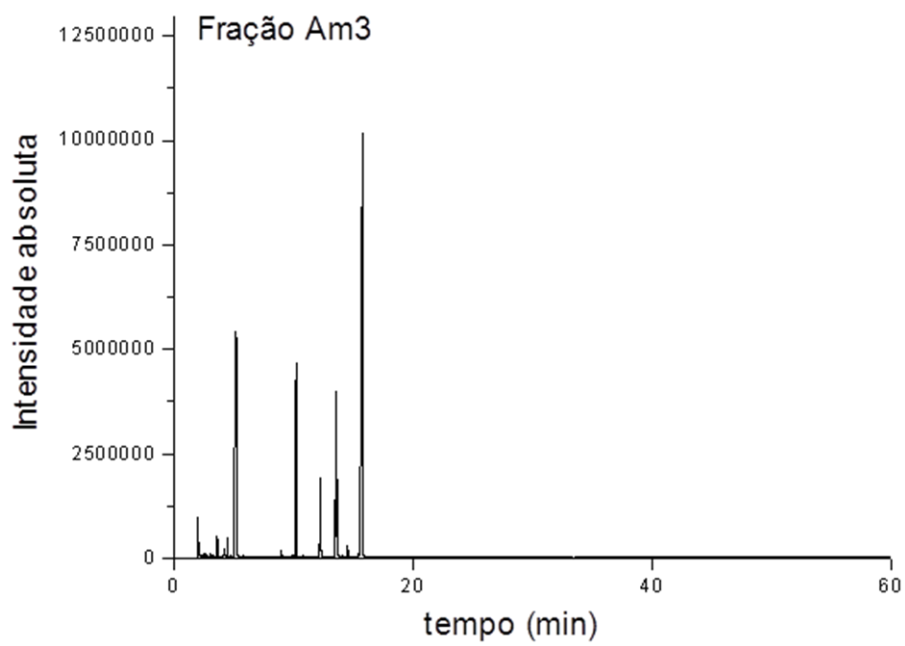
Apêndice 2 - Dados coletados dos controles da destilaria e a nomenclatura para as frações do TESTE2

Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
28/04/2010	08:00	72	40	-	-
28/04/2010	09:00(*)	28	24	-	-
28/04/2010	09:30	33	26	-	-
28/04/2010	10:00	50	36	Am50	Sim
28/04/2010	10:50	64	44	-	-
28/04/2010	11:00	66	44	-	-
28/04/2010	12:00	77	48	Am51	Não
28/04/2010	13:00	81	51	-	-
28/04/2010	14:00	79	45	Am52	Sim
28/04/2010	14:30	77	52	-	-
28/04/2010	15:00	77	52	-	-
28/04/2010	16:00	81	40	Am53	Não
28/04/2010	16:30	79	52	-	-
28/04/2010	18:00	80	50	Am54	Sim
28/04/2010	20:00	81	51	Am55	Não
28/04/2010	22:00	76	43	Am56	Sim
29/04/2010	00:00	79	40	Am57	Não
29/04/2010	02:00	78	39	Am58	Sim
29/04/2010	04:00	77	39	Am59	Não
29/04/2010	06:00	-	-	Am60	Sim
29/04/2010	07:30	78	40	-	-
29/04/2010	08:00	78	41	Am61	Não
29/04/2010	08:15	77	38	-	-
29/04/2010	08:35	76	40	-	-
29/04/2010	08:50	76	41	-	-
29/04/2010	09:10	79	41	-	-
29/04/2010	09:30	80	41	-	-
29/04/2010	09:45	80	43	-	-

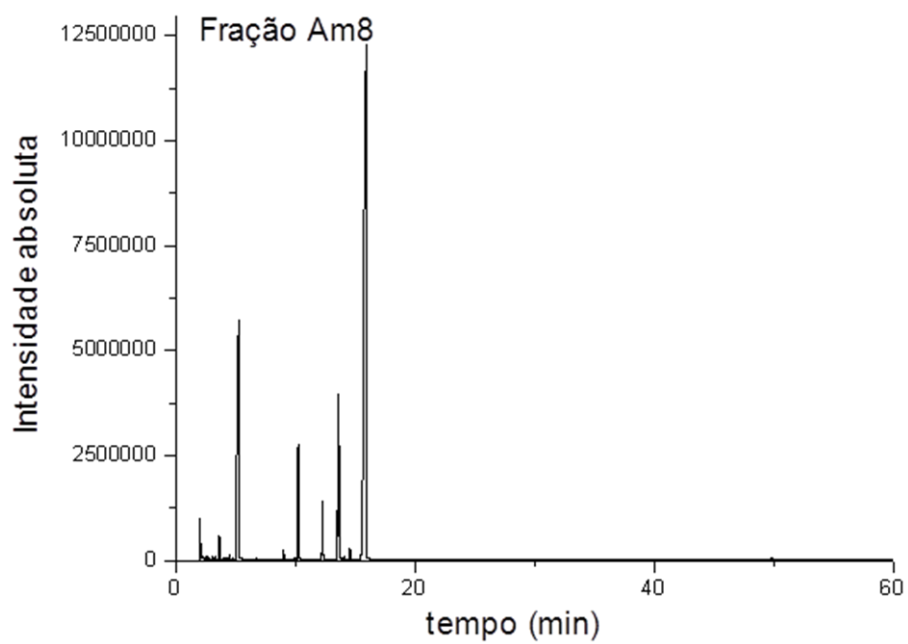
Data	Hora	Temp. Separador (°C)	Temp. Condensador (°C)	Fração coletada / nomenclatura	Amostra analisada
29/04/2010	10:00	-	-	Am62	Sim
29/04/2010	10:55	77	42	-	-
29/04/2010	12:35	77	46	-	-
29/04/2010	14:00	-	-	Am63	Não
29/04/2010	18:00	-	-	Am64	Sim
29/04/2010	22:00	-	-	Am65	Não
30/04/2010	02:00	-	-	Am66	Sim

(*) – horário do início da presença de destilado

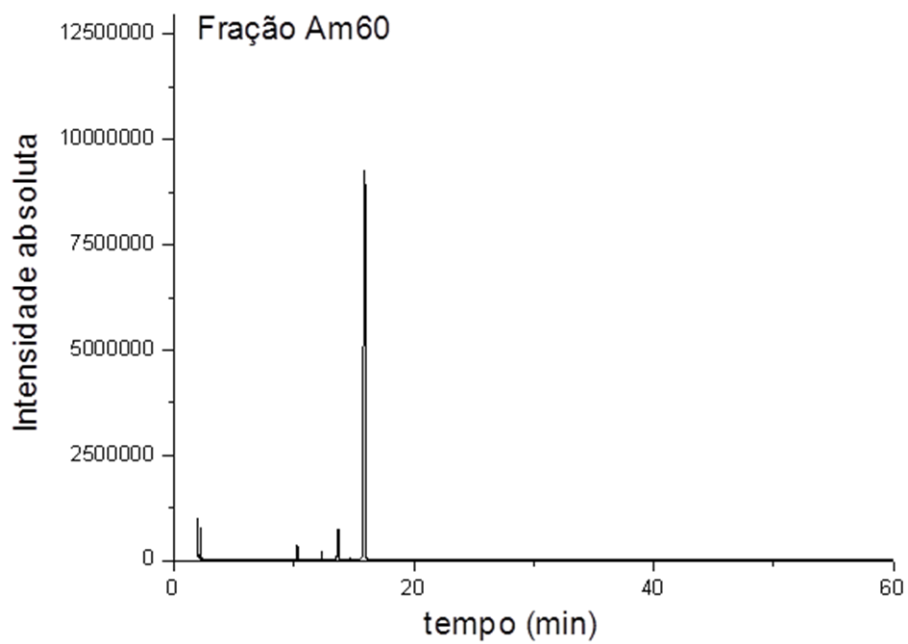
Apêndice 3 – Cromatograma (TIC) da fração Am3



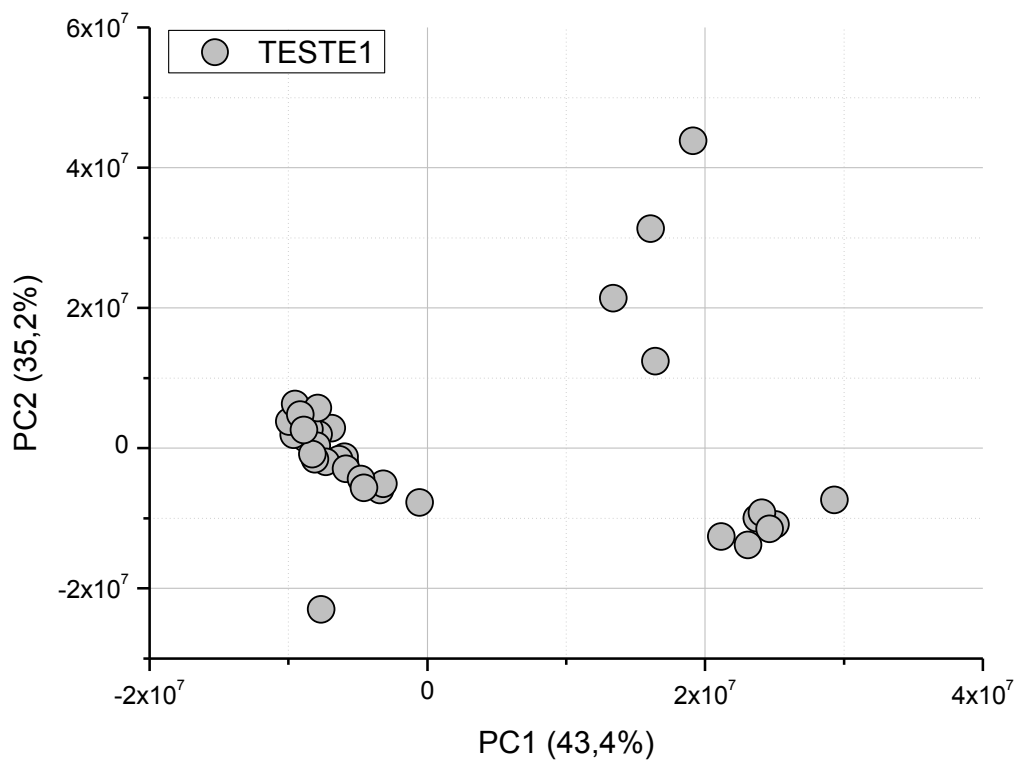
Apêndice 4 – Cromatograma (TIC) da fração Am8



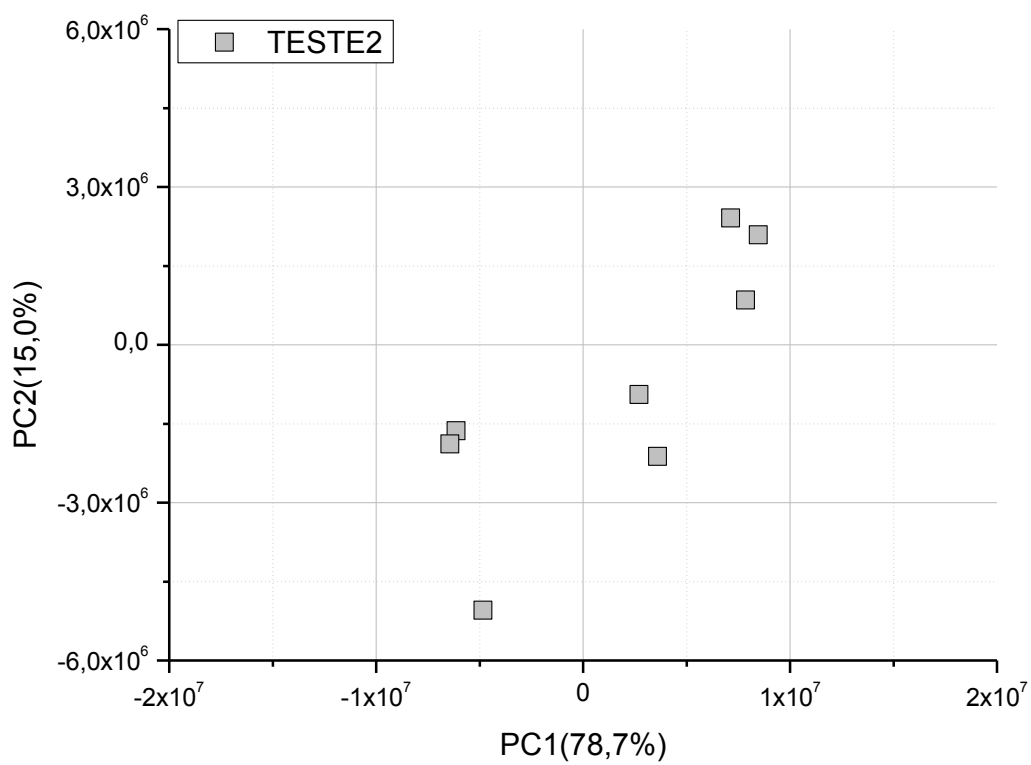
Apêndice 5 – Cromatograma (TIC) da fração Am60



Apêndice 6 – Gráfico da disposição de PC1 *versus* PC2 para os dados cromatográficos do TESTE1



Apêndice 7 – Gráfico da disposição de PC1 *versus* PC2 para os dados cromatográficos do TESTE2



Apêndice 8 - Ficha fornecida aos provadores para a análise sensorial da fração Am3

Avaliador/participante: _____ (Am3)

Data: ____/____/2011

TESTE DE DIFERENCIAÇÃO E GRAU DE SATISFAÇÃO

O objetivo do teste é conhecer a percepção do avaliador/participante em relação às amostras-problema, suas diferenças e seu grau de satisfação.

Para cada bateria, você receberá 3 recipientes com suco de laranja. Dois dos sucos são iguais, o outro é diferente em relação à adição de um óleo especial. O objetivo é provar as amostras, da esquerda para a direita, e encontrar o suco de laranja diferente, com notas sensoriais relacionadas à Aromatização, tais como: frescor, odor, sabor (odor+gosto), textura, algum sabor residual, etc.

Utilizando a escala colocada na nota de rodapé, com notas que variam de um até nove, indique o quanto você gostou ou desgostou de um modo geral das amostras iguais e da diferente.

Marque com um "X" a amostra diferente.

Primeira bateria:

255	819	496	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Segunda bateria:

486	284	688	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Terceira bateria:

725	191	253	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Quarta bateria:

871	462	726	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Notas para grau de satisfação

9 - Gostei extremamente	5 - Nem gostei / nem desgostei	4 - Desgostei ligeiramente
8 - Gostei muito		3 - Desgostei moderadamente
7 - Gostei moderadamente		2 - Desgostei muito
6 - Gostei ligeiramente		1 - Desgostei extremamente

Obrigado pela colaboração!

Apêndice 9 - Ficha fornecida aos provadores para a análise sensorial da fração Am8

Avaliador/participante: _____ (Am8)

Data: ____/____/2011

TESTE DE DIFERENCIAÇÃO E GRAU DE SATISFAÇÃO

O objetivo do teste é conhecer a percepção do avaliador/participante em relação às amostras-problema, suas diferenças e seu grau de satisfação.

Para cada bateria, você receberá 3 recipientes com suco de laranja. Dois dos sucos são iguais, o outro é diferente em relação à adição de um óleo especial. O objetivo é provar as amostras, da esquerda para a direita, e encontrar o suco de laranja diferente, com notas sensoriais relacionadas à Aromatização, tais como: frescor, odor, sabor (odor+gosto), textura, algum sabor residual, etc.

Utilizando a escala colocada na nota de rodapé, com notas que variam de um até nove, indique o quanto você gostou ou desgostou de um modo geral das amostras iguais e da diferente.

Marque com um "X" a amostra diferente.

Primeira bateria:

322	658	298	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Segunda bateria:

439	175	583	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Terceira bateria:

492	228	381	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Quarta bateria:

674	492	155	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Notas para grau de satisfação

9 - Gostei extremamente	5 - Nem gostei / nem desgostei	4 - Desgostei ligeiramente
8 - Gostei muito		3 - Desgostei moderadamente
7 - Gostei moderadamente		2 - Desgostei muito
6 - Gostei ligeiramente		1 - Desgostei extremamente

Obrigado pela colaboração!

Apêndice 10 - Ficha fornecida aos provadores para a análise sensorial da fração Am60

Avaliador/participante: _____ (Am60)

Data: ____/____/2011

TESTE DE DIFERENCIAÇÃO E GRAU DE SATISFAÇÃO

O objetivo do teste é conhecer a percepção do avaliador/participante em relação às amostras-problema, suas diferenças e seu grau de satisfação.

Para cada bateria, você receberá 3 recipientes com suco de laranja. Dois dos sucos são iguais, o outro é diferente em relação à adição de um óleo especial. O objetivo é provar as amostras, da esquerda para a direita, e encontrar o suco de laranja diferente, com notas sensoriais relacionadas à Aromatização, tais como: frescor, odor, sabor (odor+gosto), textura, algum sabor residual, etc.

Utilizando a escala colocada na nota de rodapé, com notas que variam de um até nove, indique o quanto você gostou ou desgostou de um modo geral das amostras iguais e da diferente.

Marque com um " X " a amostra diferente.

Primeira bateria:

284	726	533	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Segunda bateria:

428	983	281	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Terceira bateria:

293	552	861	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Quarta bateria:

705	488	113	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Notas para grau de satisfação

9 - Gostei extremamente	5 - Nem gostei / nem desgostei	4 - Desgostei ligeiramente
8 - Gostei muito		3 - Desgostei moderadamente
7 - Gostei moderadamente		2 - Desgostei muito
6 - Gostei ligeiramente		1 - Desgostei extremamente

Obrigado pela colaboração !

Apêndice 11 - Ficha fornecida aos provadores para a análise sensorial comparando as frações Am3, Am8 e Am60

Avaliador/participante: _____ (conf.)

Data: ____/____/2011

TESTE DE DIFERENCIAÇÃO E GRAU DE SATISFAÇÃO

O objetivo do teste é conhecer a percepção do avaliador/participante em relação às amostras-problema, suas diferenças e seu grau de satisfação.

Para cada bateria, você receberá 3 recipientes com suco de laranja. Dois dos sucos são iguais, o outro é diferente em relação à adição de um óleo especial. O objetivo é provar as amostras, da esquerda para a direita, e encontrar o suco de laranja diferente, com notas sensoriais relacionadas à Aromatização, tais como: frescor, odor, sabor (odor+gosto), textura, algum sabor residual, etc.

Utilizando a escala colocada na nota de rodapé, com notas que variam de um até nove, indique o quanto você gostou ou desgostou de um modo geral das amostras iguais e da diferente.

Marque com um "X" a amostra diferente.

Primeira bateria:

509	374	462	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Segunda bateria:

611	269	612	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

Terceira bateria:

270	819	780	Qual o grau de satisfação para a amostra diferente?		Qual o grau de satisfação para as amostras iguais?	
-----	-----	-----	---	--	--	--

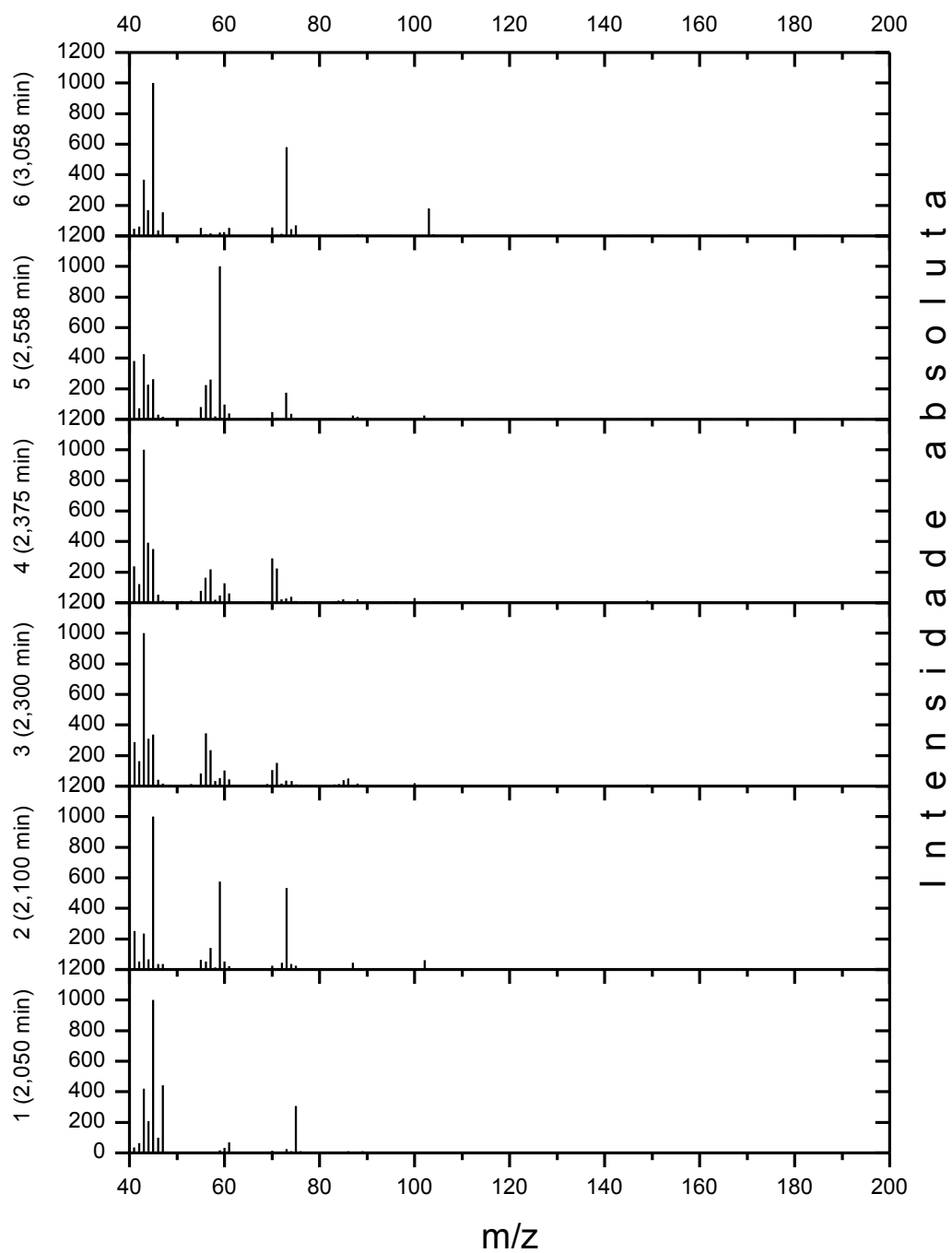
Comentários: _____

Notas para grau de satisfação

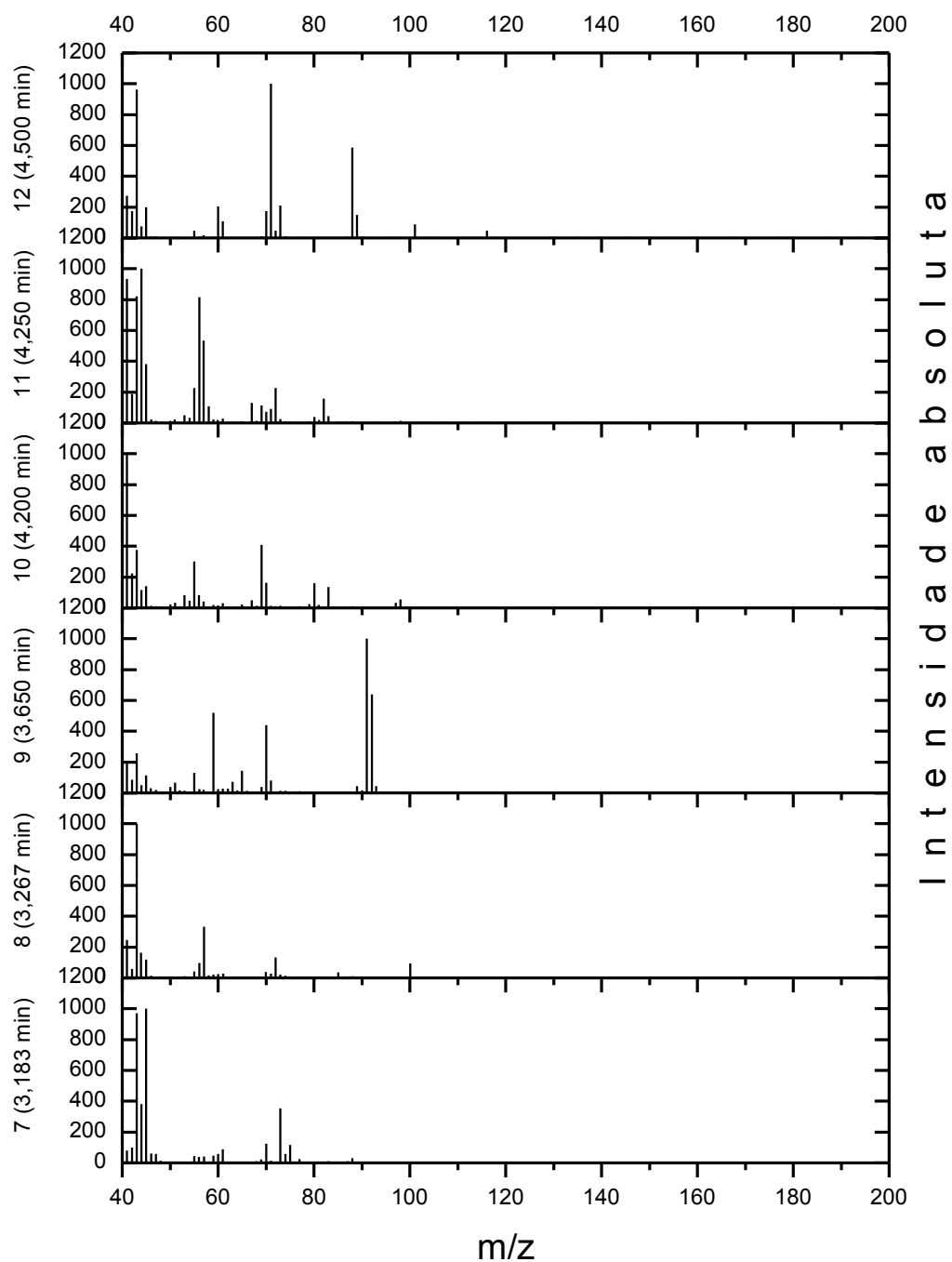
9 - Gostei extremamente	5 - Nem gostei / nem desgostei	4 - Desgostei ligeiramente
8 - Gostei muito		3 - Desgostei moderadamente
7 - Gostei moderadamente		2 - Desgostei muito
6 - Gostei ligeiramente		1 - Desgostei extremamente

Obrigado pela colaboração !

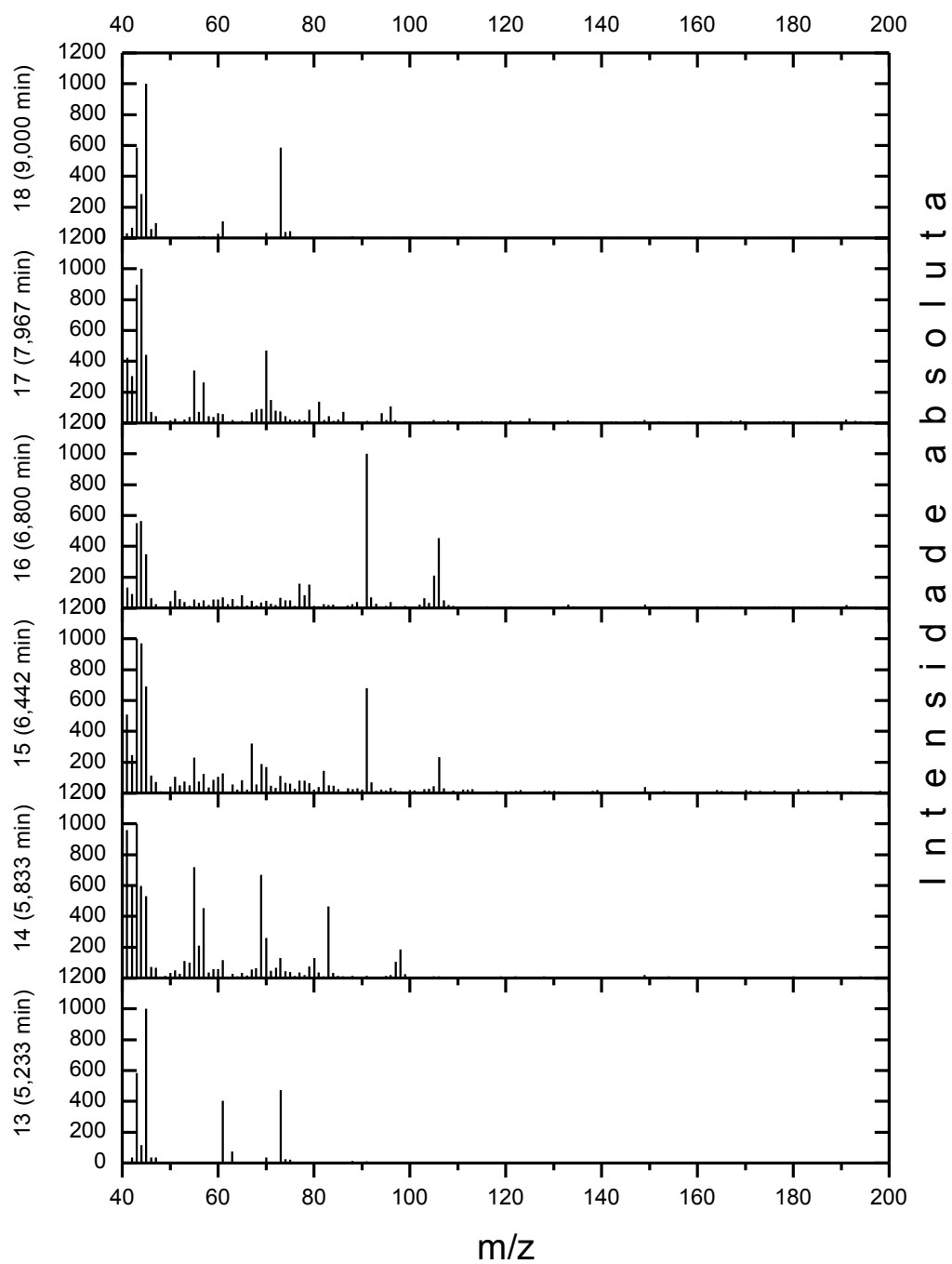
Apêndice 12 – Espectros de massas para a fração Am3, para as bandas cromatográficas de 1 a 6, nos tempos de retenção 2,050 min a 3,058 min



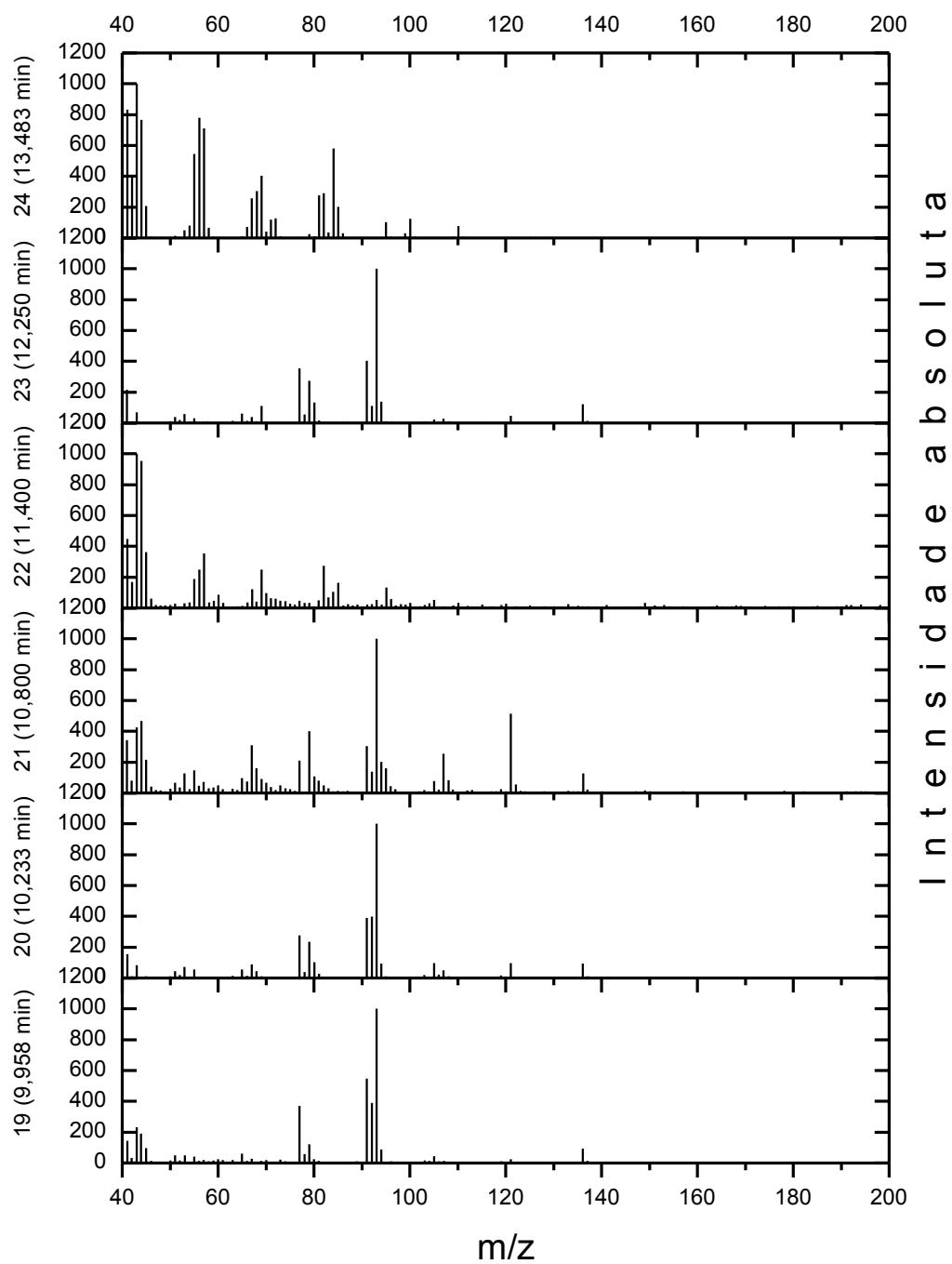
Apêndice 13 – Espectros de massas para a fração Am3, para as bandas cromatográficas de 7 a 12, nos tempos de retenção 3,183 min a 4,500 min



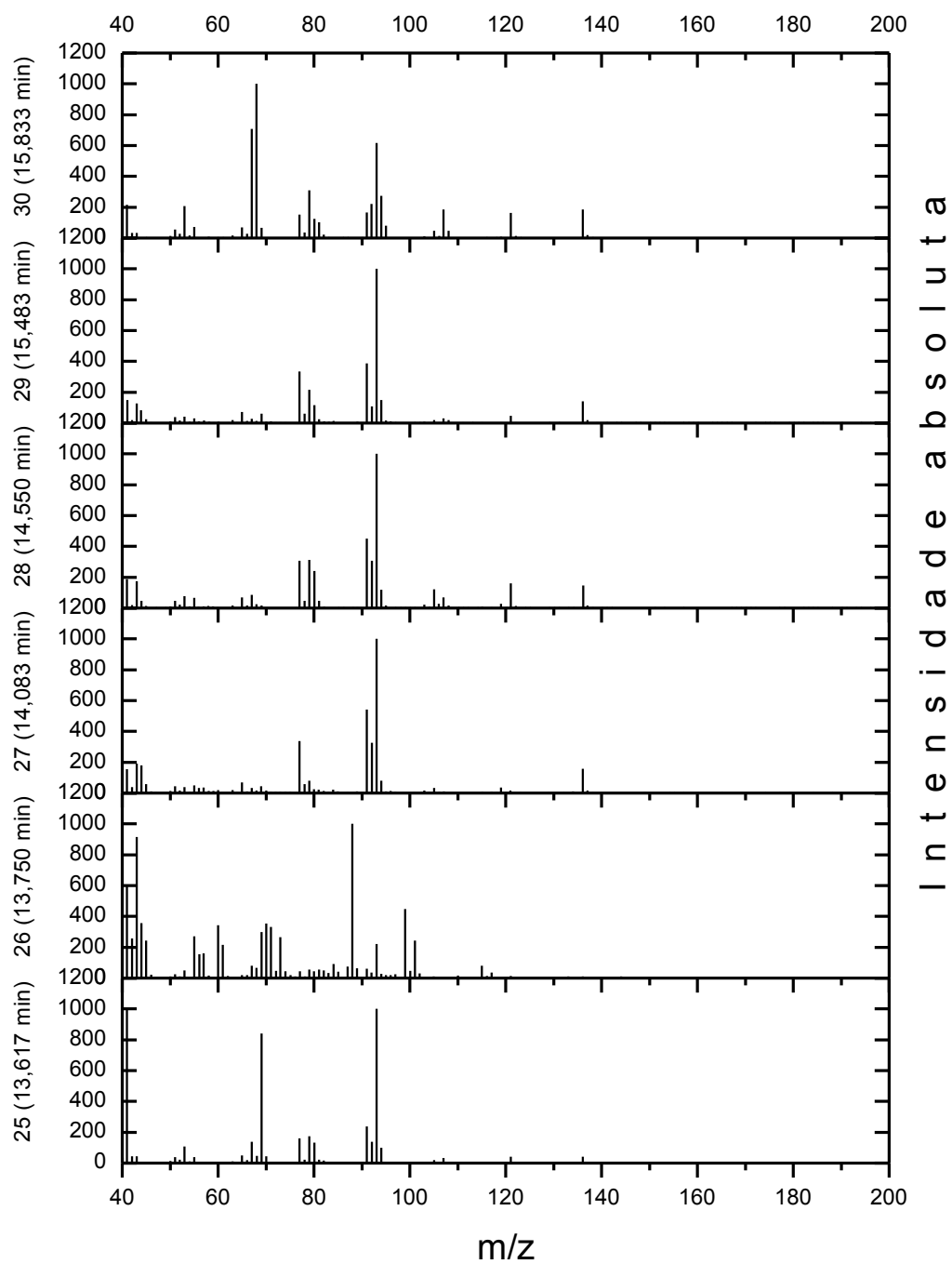
Apêndice 14 – Espectros de massas para a fração Am3, para as bandas cromatográficas de 13 a 18, nos tempos de retenção 5,233 min a 9,000 min



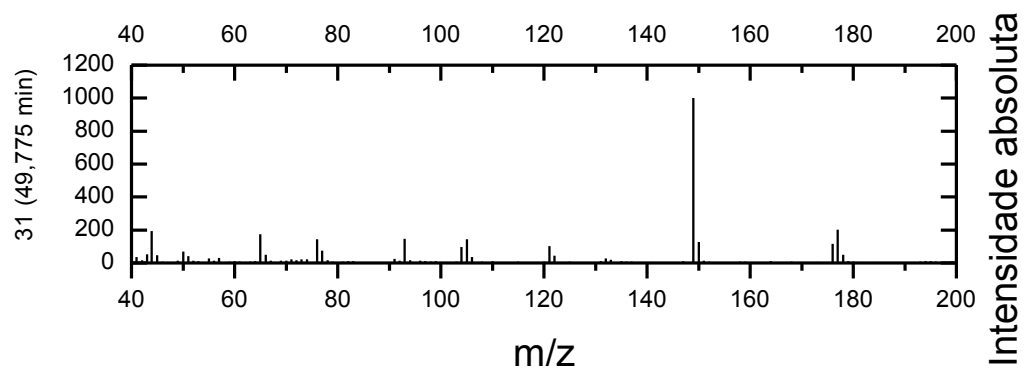
Apêndice 15 – Espectros de massas para a fração Am3, para as bandas cromatográficas de 19 a 24, nos tempos de retenção 9,958 min a 13,483 min



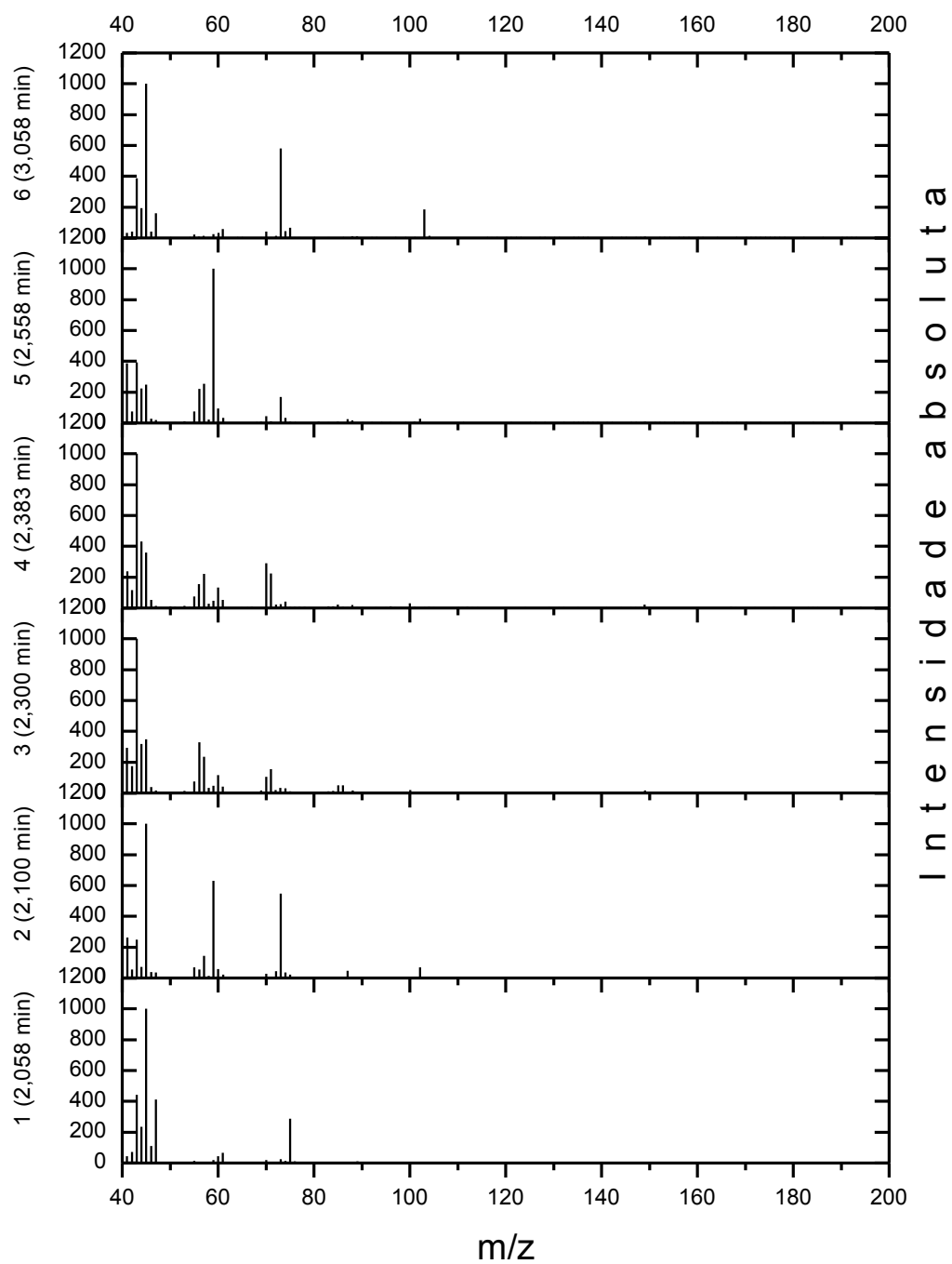
Apêndice 16 – Espectros de massas para a fração Am3, para as bandas cromatográficas de 25 a 30, nos tempos de retenção 13,617 min a 15,833 min



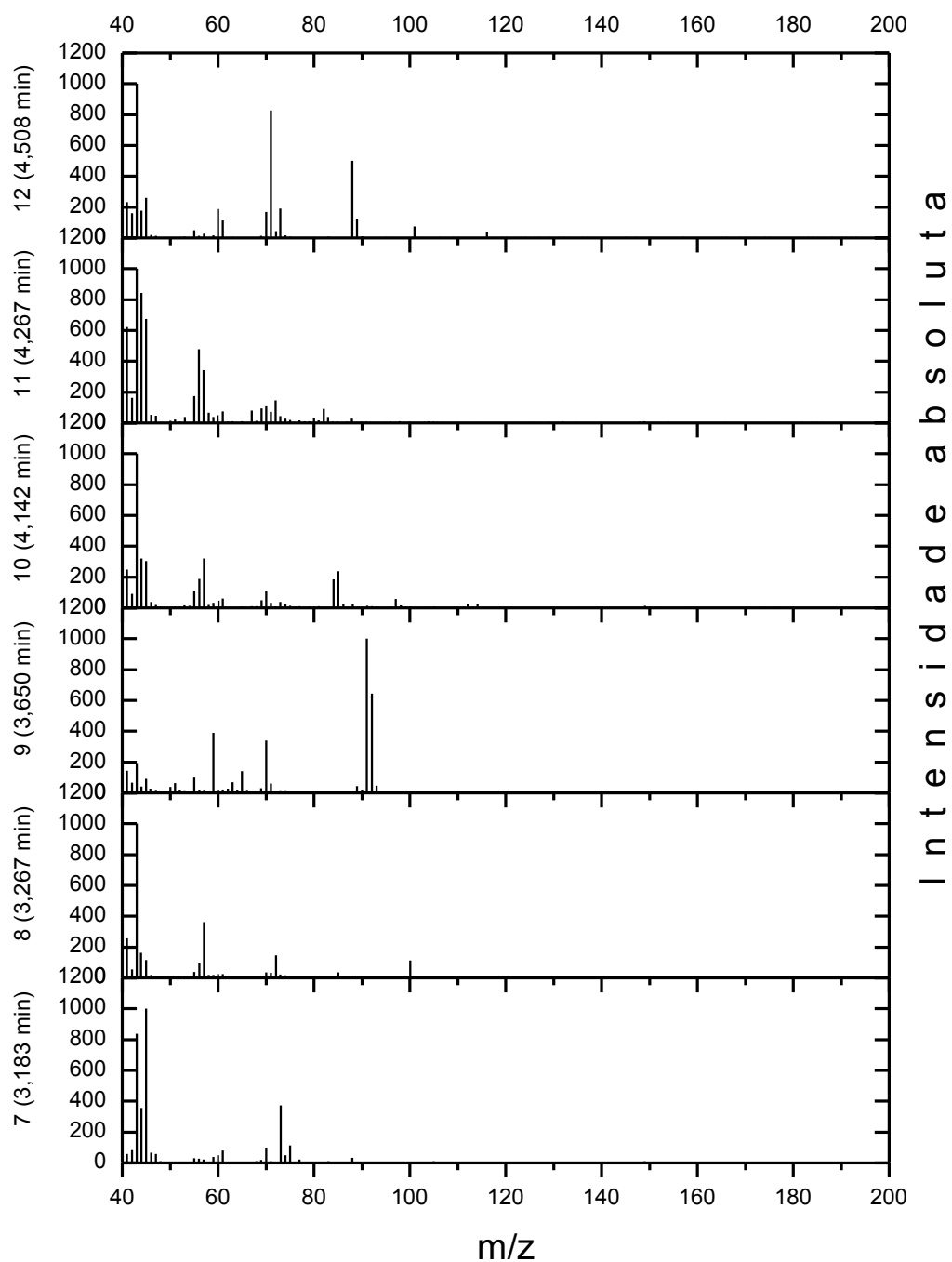
Apêndice 17 – Espectros de massas para a fração Am3, para a banda cromatográfica 31, no tempo de retenção 49,775 min



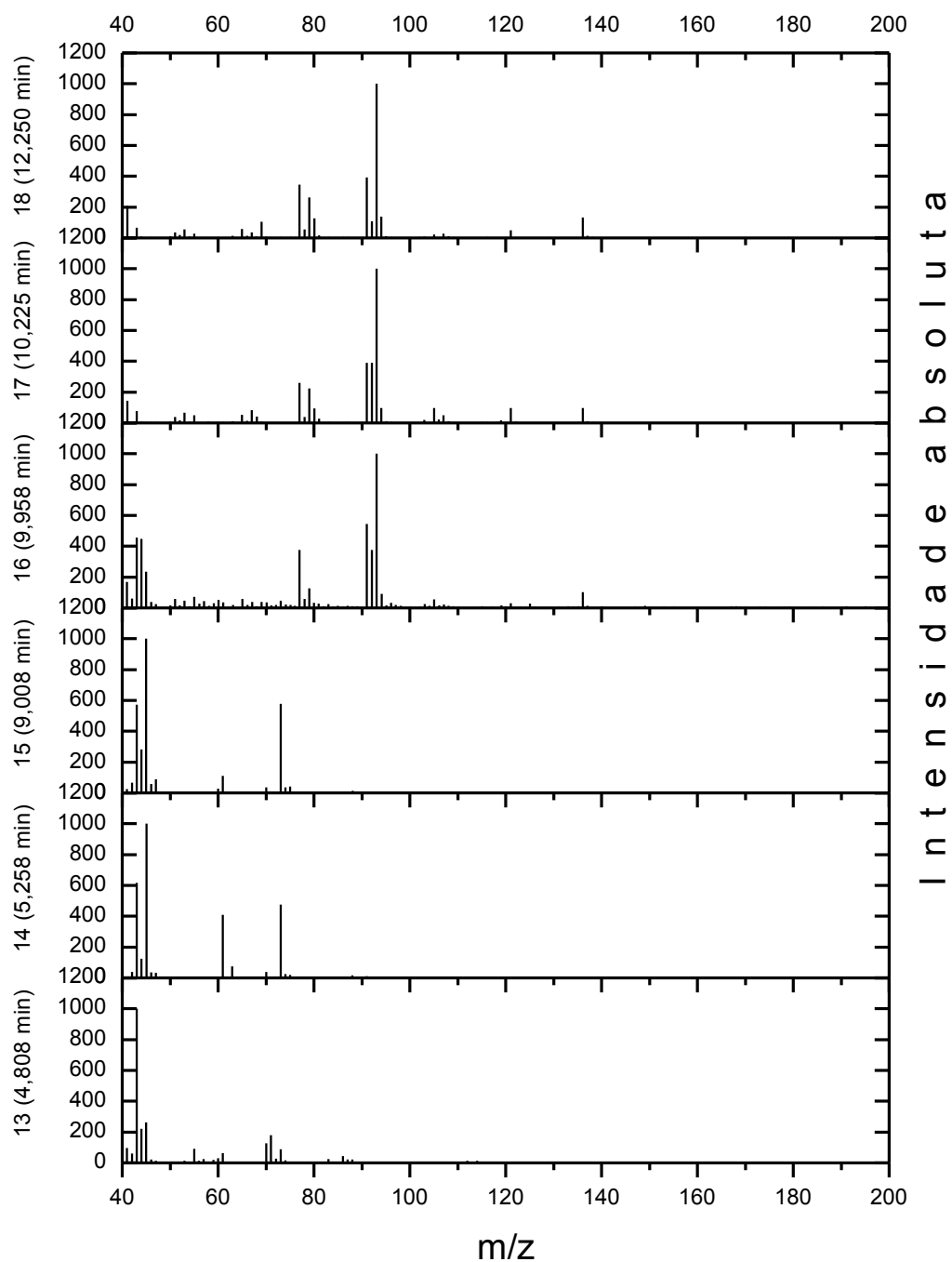
Apêndice 18 – Espectros de massas para a fração Am8, para as bandas cromatográficas de 1 a 6, nos tempos de retenção 2,058 min a 3,058 min



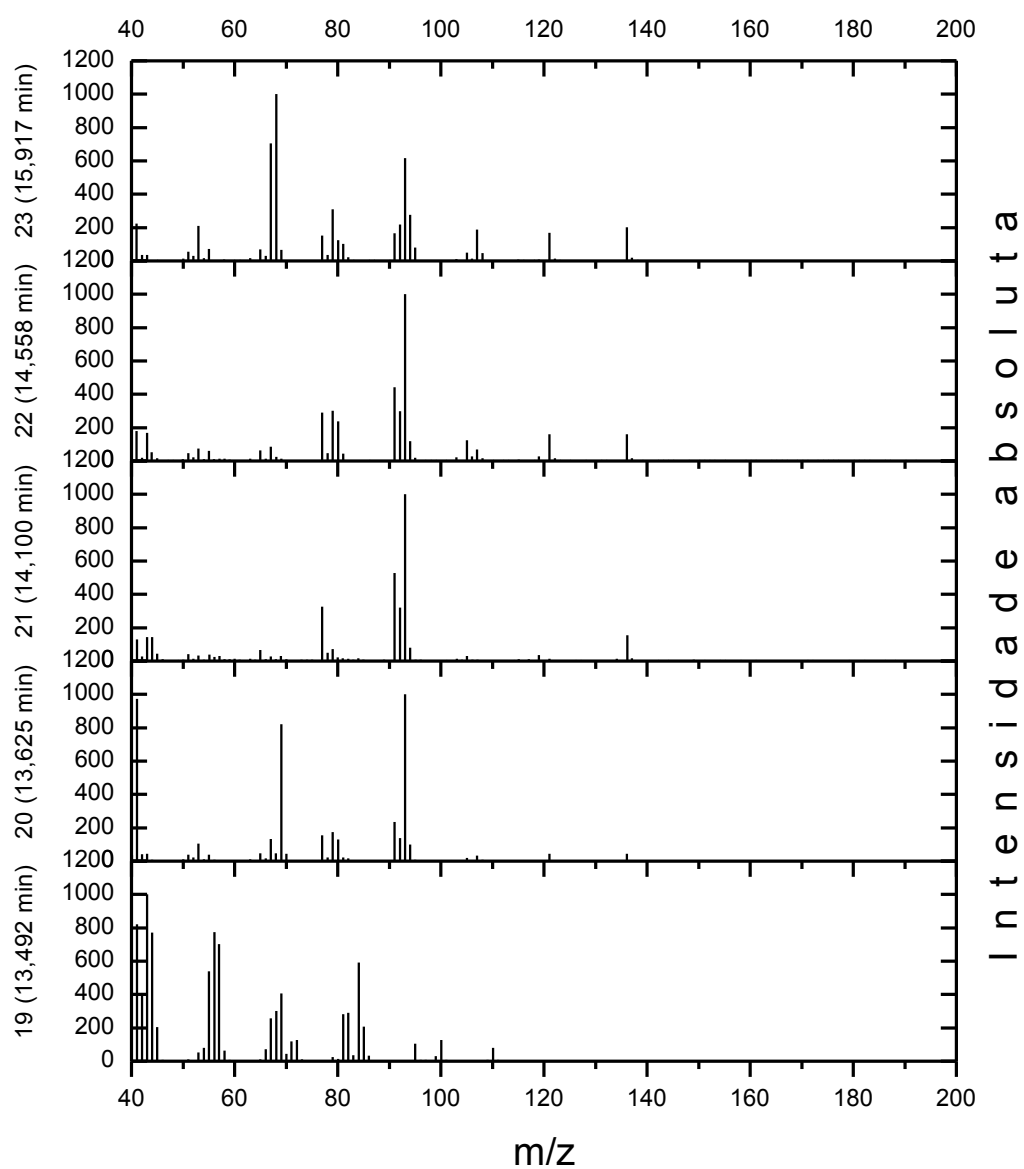
Apêndice 19 – Espectros de massas para a fração Am8, para as bandas cromatográficas de 7 a 12, nos tempos de retenção 3,183 min a 4,508 min



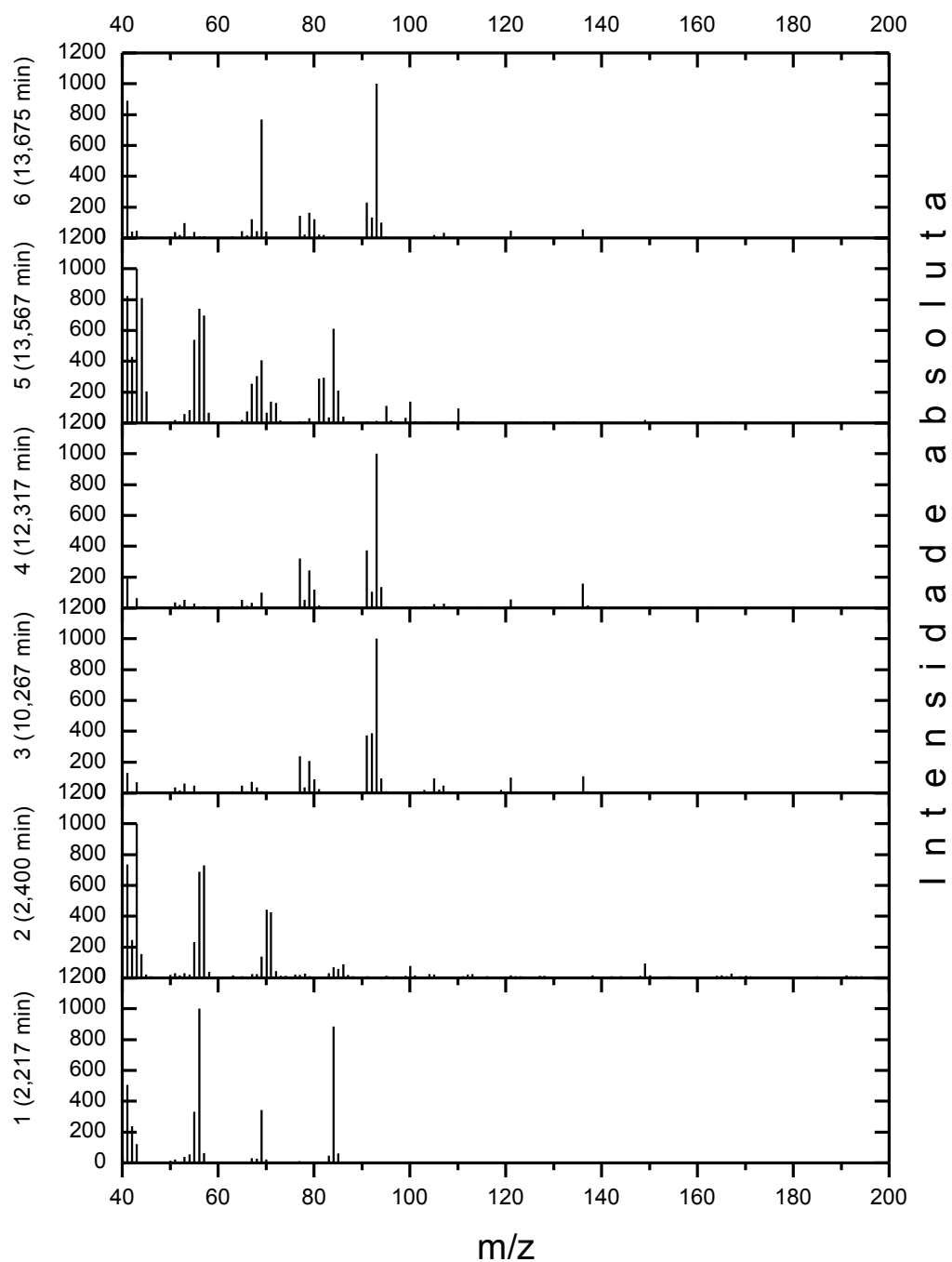
Apêndice 20 – Espectros de massas para a fração Am8, para as bandas cromatográficas de 13 a 18, nos tempos de retenção 4,808 min a 12,250 min



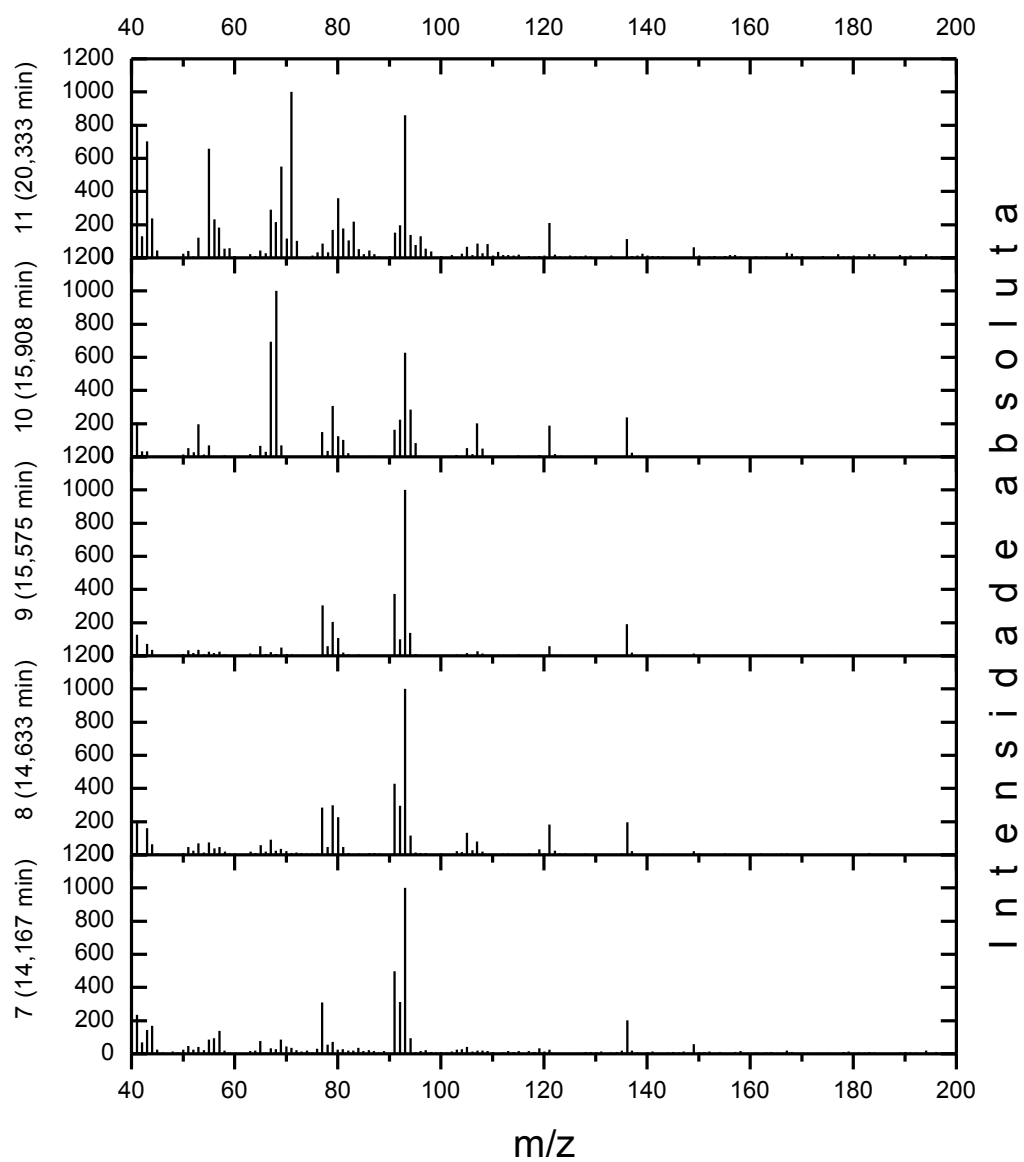
Apêndice 21 – Espectros de massas para a fração Am8, para as bandas cromatográficas de 19 a 23, nos tempos de retenção 13,492 min a 15,917 min



Apêndice 22 – Espectros de massas para a fração Am60, para as bandas cromatográficas de 1 a 6, nos tempos de retenção 2,217 min a 13,675 min



Apêndice 23 – Espectros de massas para a fração Am60, para as bandas cromatográficas de 7 a 11, nos tempos de retenção 14,167 min a 20,333 min



Apêndice 24 – Detalhes dos compostos identificados segundo PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas para a Am3 e verificação na literatura

Banda n.	Fração Am3										
	1	2	3	4	5	6	8	9	11	12	14
Tempo de retenção (min)	3,058 (*)	4,250	4,500 (2*)	9,958	10,233	12,250	13,483	13,617	14,550	15,483	15,833
Composto identificado	acetaldeído	hexanal	ácido butanóico butirato de etila	α -tujeno	α -pineno	β -pineno	octanal	β -mirceno	Δ -3-careno	β -felandreno	D-limoneno
Probabilidade (%)	94	95	97	90	98	97	97	96	98	93	96
Está presente na literatura consultada? (*3)	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Espectro de massas (Apêndice / Espectro)	12 / 6	13 / 11	13 / 12	15 / 19	15 / 20	15 / 23	15 / 24	16 / 25	16 / 28	16 / 29	16 / 30
Intensidade Relativa (%)	1,16	2,13	4,84	0,76	45,75	18,75	13,57	39,28	2,81	1,22	100,00

(*) Para a banda cromatográfica nº 1, com tempo de retenção 3,058min, obtivemos a identificação da substância como Acetaldeído, mas não podemos afirmar com certeza que realmente esse é o composto, pois a varredura de m/z começa em 40, e esse composto possui sinais de fragmentos abaixo deste valor.

(2*) Para a banda cromatográfica nº 3, com tempo de retenção 4,500min, obtivemos a identificação da substância em Ácido Butanóico e Butirato de Etila (ambos não constam na literatura fazendo parte do óleo essencial de laranja). Devido às baixas concentrações, às diluições, e posteriormente ao baixo número de íons formados pelo impacto eletrônico (EI), todos esses fatores somaram para tornar esse espectro de massas insuficiente para a confiabilidade da identificação dessas substâncias.

(3*) As referências bibliográficas da literatura consultada estão relacionadas no Apêndice 24.

Apêndice 25 – Detalhes dos compostos identificados segundo PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas para a Am8 e verificação na literatura

Banda n°	Fração Am8						
	5	6	8	9	10	11	14
Tempo de retenção (min)	10,225	12,250	13,492	13,625	14,100	14,558	15,917
Composto identificado	α -pineno	β -pineno	octanal	β -mirceno	α -felandreno	Δ -3-careno	D-limoneno
Probabilidade (%)	98	96	97	96	90	97	96
Está presente na literatura consultada? (*)	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Espectro de massas (Apêndice / Espectro)	20 / 17	20 / 18	21 / 19	21 / 20	21 / 21	21 / 22	21 / 23
Intensidade Relativa (%)	22,65	11,50	9,61	32,17	0,81	2,19	100,00

(*) As referências bibliográficas da literatura consultada estão relacionadas no Apêndice 24.

Apêndice 26 – Detalhes dos compostos identificados segundo PBM (*Probability based matching*) / Espectrometria de Massas para a Am60 e verificação na literatura

Banda n°	Fração Am60							
	5	7	8	9	11	13	14	15
Tempo de retenção (min)	10,267	12,317	13,567	13,675	14,633	15,575	15,908	20,333
Composto identificado	α -pineno	sabineno	octanal	β -mirceno	Δ -3-careno	β -felandreno	D-limoneno	linalol
Probabilidade (%)	97	96	97	95	95	94	95	93
Está presente na literatura consultada? (*)	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Espectro de massas (Apêndice / Espectro)	22 / 3	22 / 4	22 / 5	22 / 6	23 / 8	23 / 9	23 / 10	23 / 11
Intensidade Relativa (%)	3,85	2,16	1,19	7,77	0,63	0,82	100,00	0,44

(*) As referências bibliográficas da literatura consultada estão relacionadas no Apêndice 24.

Apêndice 27 – Relação dos compostos identificados por PBM / Espectrometria de Massas separados por fração e seus valores de intensidade relativa

Compostos identificados	Intensidade Relativa para as frações:					
	Am3	IR (%) (*3)	Am8	IR (%) (*3)	Am60	IR (%) (*3)
Acetaldeído (*)	√	1,16				
Hexanal	√	2,13				
Ácido butanóico (*2)	√	4,84				
Butirato de Etila (*2)	√	4,84				
alfa-tujeno	√	0,76				
alfa-pineno	√	45,75	√	22,65	√	3,85
beta-pineno	√	18,75	√	11,50		
Sabineno					√	2,16
Octanal	√	13,57	√	9,61	√	1,19
beta-mirceno	√	39,28	√	32,17	√	7,77
alfa-felandreno			√	0,81		
delta-3-careno	√	2,81	√	2,19	√	0,63
beta-felandreno	√	1,22			√	0,82
D-limoneno	√	100,00	√	100,00	√	100,00
Linalol					√	0,44

(*) Para a banda cromatográfica n° 1, com tempo de retenção 3,058min, obtivemos a identificação da substância como Acetaldeído, mas não podemos afirmar com certeza que realmente esse é o composto, pois a varredura de m/z começa em 40, e esse composto possui sinais de fragmentos abaixo deste valor.

(2*) Para a banda cromatográfica n° 3, com tempo de retenção 4,500min, obtivemos a identificação da substância em Ácido Butanóico e Butirato de Etila (ambos não constam na literatura fazendo parte do óleo essencial de laranja). Devido às baixas concentrações, às diluições, e posteriormente ao baixo número de íons formados pelo impacto eletrônico (EI), todos esses fatores somaram para tornar esse espectro de massas insuficiente para a confiabilidade da identificação dessas substâncias.

(3*) IR – Intensidade relativa para o composto, quando identificado na respectiva fração.

√ - Composto identificado para a respectiva fração.

Apêndice 28 – Relação das referências bibliográficas consultadas para os compostos identificados.

Composto identificado	Referências
Acetaldeído	BRADDOCK e KESTERSON, 1976; KIRCHNER e MILLER, 1957
Δ-3-careno	VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a
α-felandreno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; HUNTER e BROGDEN JR., 1965b; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; BERNHARD, 1961
β-felandreno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983
Hexanal	BRADDOCK e KESTERSON, 1976; MOSHONAS e LUND, 1970; KIRCHNER e MILLER, 1957
D-limoneno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983; SHAW e COLEMAN, 1974; LIFSHITZ <i>et al.</i> , 1970; MOSHONAS e LUND, 1970; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; IKEDA <i>et al.</i> , 1962; BERNHARD, 1961; KIRCHNER e MILLER, 1957
Linalol	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983; HUNTER e MOSHONAS, 1965; BERNHARD, 1961; KIRCHNER e MILLER, 1957
β-mirceno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983; SHAW e COLEMAN, 1974; LIFSHITZ <i>et al.</i> , 1970; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; HUNTER e BROGDEN JR., 1965b; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; IKEDA <i>et al.</i> , 1962; BERNHARD, 1961; KIRCHNER e MILLER, 1957
Octanal	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; BERRY, 1985; VORA <i>et al.</i> , 1983; BRADDOCK e KESTERSON, 1976; LIFSHITZ <i>et al.</i> , 1970; MOSHONAS e LUND, 1970; KIRCHNER e MILLER, 1957

Composto identificado	Referências
α -pineno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983; LIFSHITZ <i>et al.</i> , 1970; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; HUNTER e BROGDEN JR., 1965b; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; IKEDA <i>et al.</i> , 1962
β -pineno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; IKEDA <i>et al.</i> , 1962
Sabineno	NJOROGÉ <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; VORA <i>et al.</i> , 1983; LIFSHITZ <i>et al.</i> , 1970; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; HUNTER e BROGDEN JR., 1965b; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; IKEDA <i>et al.</i> , 1962
α -tujeno	VERZERA <i>et al.</i> , 2004; MINH TU <i>et al.</i> , 2002; MITIKU <i>et al.</i> , 2000; HUNTER e BROGDEN JR., 1965a; HUNTER e BROGDEN JR., 1965b; TERANISHI <i>et al.</i> , 1963; KIRCHNER e MILLER, 1957

8 – REFERÊNCIAS

ABECITRUS - Associação Brasileira de Exportadores de Cítricos, Disponível em: <http://www.abecitrus.com.br/subprodutos_br.html > acesso em 17 de janeiro de 2009.

AHMAD, M. M.; REHMAN, S. Sensory evaluation of *citrus* peel essential oils as flavouring agents in various food products. *J. Agric. Res.*, v. **44**, n. 4, 2006.

ALMEIDA, S. B. *Efeito de Diferentes Aromas Cítricos Sobre a Qualidade e Estabilidade Sensoriais de Suco de Laranja Pronto para Beber*. 2006. Tese (Doutorado em Tecnologia em Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2006.

AMARO, A. A. Citricultura. IN: *Prognóstico agrícola 1999/2000*. Informações Econômicas, v. **29**, n. 12, p. 65-74, 1999.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA: *Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 259*, de 20 de setembro de 2002. Regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 23 de setembro de 2002. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>, Acesso em: 02 Out. 2011.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA: *Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 123*, de 13 de maio de 2004. Alteração na redação do Art. 1º, subitem 3.3. da RDC 259 (20/09/2002) - Regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 13 de maio de 2004. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>, Acesso em: 02 Out. 2011.

ARIZAGA, B.; DE LEON, A.; LÓPEZ, A.; PAZ, D.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E.; BUSSI, J. *Process characterization for the obtention of limonene oxygenated derivatives from orange oil*. 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. 2005. 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering. 2005.

BAKER, J. *Mass Spectrometry, analytical chemistry by open learning*. 2a. Ed., University of Greenwich. Ed. David J. Ando, John Wiley & Sons, 2000.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol*, v. **46**, p. 446-475, 2007.

BARATTA, M. T.; DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, v. **13**, p. 235–244, 1998.

BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*, 4th edn. Weinheim: Wiley – VCH, 2001.

BAZEMORE, R. A. *Osme and sensory analysis of aqueous orange essence*. 1995. Tese (Master Science), Oregon State University, Corvallis, EUA, 1995.

BERNHARD, R. A. *Citrus flavor*. Volatile constituents of the essential oil of the orange. *Journal of Food Science*, v. **26**, p. 401–411, 1961.

- BERRY, R. E. Recent developments in analytical techniques for *citrus* products. *Food Technology*, sept., p. 91–94, 1985.
- BETTINI, M. F. M. *Estudo de Aromas Cítricos Através de Métodos Sensoriais, Cromatográficos e Espectroscópicos*. 1995. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- BETTINI, M. F. M.; SHAW, P. E.; LANÇAS, F. M. Sensory and analytical evaluations of Brazilian orange juices and aromas. *Fruit Processing*, v. **7**, p. 283-287, 1998.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Quim. Nova*, v. **32**, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOUNATIROU, S.; SMITI, S.; MIGUEL, M. G.; FALEIRO, L.; REJEB M. N.; NEFFATI, M.; COSTA, M. M.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO L. G. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, v. **105**, p. 146–155, 2007.
- BOUWMEESTER, H. J.; VERSTAPPEN, F. W.; POSTHUMUS, M. A.; DICKE, M. Spider mite-induced (3S)-(E)-nerolidol synthase activity in cucumber and lima bean. The first dedicated step in acyclic C11-homoterpene biosynthesis. *Plant Physiol*, v. **121**, p. 173-180, 1999.
- BOVILL, H. Natural aroma chemicals from oranges and other botanical sources. *Perfumer and Flavorist*, v. **21**, p. 9–11, 1996.
- BRADDOCK, R. J.; KESTERSON, J. W. Quantitative analysis of aldehydes, esters, alcohols and acids from *citrus* oils. *Journal of Food Science*, v. **41**, n. 5, p. 1007–1010, 1976.
- CELIKEL, N.; KAVAS, G. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech J. Food Sci.* v. **26**, n. 3, p. 174–181, 2008.
- CHAPMAN, J. R. *Practical Organic mass Spectrometry, a guide for chemical and biochemical analysis*. 2a. Ed., John Wiley & Sons, 1993.
- COMTRADE - United Nations Commodity Trade Statistics Database. Disponível em: <<http://comtrade.un.org/>> acessado em 28 de abril de 2011.
- COSENTINO, S.; TUBEROSO, C. I. G.; PISANO, B.; SATTA, M.; MASCIA, V.; ARZEDI, E.; PALMAS, F. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. *Letters of Applied Microbiology*, v. **29**, p. 130–135, 1999.
- CREASER, C.; KOUPAI-ABYAZANI, M.; STEPHENSON, R. Determination of trace amounts of heavy metals in agricultural by-products using anodic stripping voltammetry. *Analyst*. V. **117**, p. 1105-1109, 1992.
- CROUSE, W. H. *Encyclopedia of Science and Technology*. Vol. III (chacyt) McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. p. 147-148, 1960.
- CROWELL, P. L. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *Journal of Nutrition*, v. **129**, p. 775–778, 1999.

DE RODRÍGUEZ, G. O.; YSAMBERTT, F.; DE FERRER, B. S.; CABRERA, L. Volatile fraction composition of Venezuelan sweet orange essential oil (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences*, at La Universidad del Zulia, v. **11**, n. 1, January-March 2003.

DE SOUZA, L. M. *Aplicações da Espectrometria de Massas e da Cromatografia Líquida na Caracterização Estrutural de Biomoléculas de Baixa Massa Molecular*. 2008. Tese (Doutorado – Ciências - Bioquímica) - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia, um breve ensaio. *Química Nova na Escola (cromatografia)*, v. **7**, p. 21-25, 1998.

DICKE, M. Specificity of herbivore-induced plant defences. *Novartis Foundation Symp*, v. **223**, p. 43-54, 1999.

DOUGHERTY, R. H.; AHMED, E. M. Flavor enhancing potential of selected orange oil and essence components and their relationship to product quality. *U. S. Dept. Agric.*, 1973.

ELVIÑA, R. O., JR; MOJICA, Elmer-Rico E. Orange Peel Essential Oil as Component of a Metal Sensor for Lead (II) Ion Determination in Aqueous Solutions. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt*. V. **9** (2), p. 23 – 27, 2005.

ESCOBAR, M. R.; GONÇALVES, J. S.; CARDOSO, J. L. Diferenças e similaridades entre os segmentos do complexo citrícola paulista. *Agricultura em São Paulo*, v. **46**, n. 1, 1999.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, v. **19**, p. 156–164, 2008.

GARCIA, L. V. *Efeito do Óleo Essencial de Laranja no Aroma e Sabor do Suco Concentrado Congelado: a Colaboração do Consumidor*. 2000. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2000.

GRASSI-FILHO, H.; PENTEADO, B. B.; DOS SANTOS, C. H. Preparo de amostras e métodos para a determinação do teor de óleo essencial de frutos de limoeiro. *Rev. Bras. Frutic*. v. **27**, p. 191-193, 2005.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L.; LEACH, D. N. The structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flav Fragr J*, v. **14**, p. 322-332, 1999.

HASSE, G. *A Laranja no Brasil*. São Paulo: 1984.

HERATH, H.; ABEYWICKRAMA, K. In vitro application of selected essential oils and their major components in controlling fungal pathogens of crown rot in *Embul banana* (*Musa acuminata*-AAB). *International Journal of Food Science and Technology*, v. **43**, p. 440–447, 2008.

HOUSE, T. G.; ROAD, M. *Eight Peak Index of Mass Spectra*. 4a. Edição, Vol. 1, Parte 1, United Kingdom, The Mass Spectrometry Data Centre (The Royal Society of Chemistry), 1991.

-
- HUET, R. Les huilles essentielles d' agrumes. *Fruits*, v. **46**, p. 501-513, 1991.
- HUNTER, G. L.; BROGDEN JR., W. B. Terpenes and sesquiterpene in cold-pressed orange oil. *Journal of Food Science*, v. **30**, n. 1, p. 1–4, 1965a.
- HUNTER, G. L.; BROGDEN JR., W. B. Analysis of the terpene and sesquiterpene hydrocarbons in some *citrus* oils. *Journal of Food Science*, v. **30**, n. 3, p. 383-387, 1965b.
- HUNTER, G. L.; MOSHONAS, M. G. Isolation and identification of alcohols in cold-pressed Valencia orange oil by liquid-liquid extraction and gas chromatography. *Analytical Chemistry*, v. **37**, p. 378-380, 1965.
- IKEDA, R. M.; STANLEY, W. L.; ROLLE, L. A.; VANNIER, S. H. Monoterpene hydrocarbon composition of *citrus* oils. *Journal of Food Science*, v. **27**, p. 593-596, 1962.
- ISMAN, M. B. Plant essential oil for pest and disease management. *Crop Protect*, v. **19**, p. 603-608, 2000.
- JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; STOYANOVA, A. S.; GEORGIEV, E. V.; DAMIANOVA, S. T. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years. *International Journal of Food Science and Technology*, v. **40**, p. 305–310, 2005.
- JUN, M.; JEONG, W.-S.; HO, C.-T. Health promoting properties of natural flavor substances. *Food Sci Biotechnol*, v. **15**, p. 329-335, 2006.
- KIMBALL, D. A. *Citrus processing: quality control and technology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991, p. 473.
- KIRCHNER, J. G.; MILLER, J. M. Volatile water-soluble and oil constituents of Valencia orange juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. **5**, p. 283-291, 1957.
- LANÇAS, F. M.; McNAIR, H. M. Cromatografia em fase gasosa. 1-teoria elementar. *Química Nova*, v. **6**, p. 6-13, 1983.
- LANGENHEIM, J. H. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. *J Chem Ecol*, v. **20**, p. 1223-1280, 1994.
- LAWRENCE, B. M. IN: *New crops*; JANICK, J.; SIMON, J. E.; eds.; Wiley: New York, 1993, 620p.
- LIFSHITZ, A.; STANLEY W. L.; STEPAP, Y. Comparison of Valencia essential oils from California, Florida and Israel. *Journal of Food Science*, v. **35**, p. 547-548, 1970.
- MAGWA, M. L.; GUNDIDZA, M.; GWERUA, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. **103**, p. 85–89, 2006.
- MALAVOLTA, E.; NETTO, A. V. *Nutrição mineral, calagem, gessagem e adubação dos citros*. Piracicaba: POTAFOS, 1989. 153p.

MATASYOH, J. C.; KIPLIME, J. J.; KARUBIU, N. M.; HAILSTORKS, T. P. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Tarchoanthus camphorates*. *Food Chemistry*, v. **101**, p. 1183–1187, 2007.

MATHEWS, R. F.; BRADDOCK, R. J. Recovery and applications of essential oils from oranges. *Food Technology*, v. **41**, n. 1, p. 57-61, 1987.

MINH TU, N. T.; THANH, L. X.; UNE, A.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. *Flavour and Fragrance Journal*, v. **17**, p. 169–174, 2002.

MITIKU, S. B.; SAWAMURA, M.; ITOH, T.; UKEDA, H. Volatile components of peel coldpressed oils of two cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) from Ethiopia. *Flavour and Fragrance Journal*, v. **15**, p. 240–244, 2000.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DE VALLE, C. E.; ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie-LWT*, v. **38**, p. 565–570, 2005.

MOSHONAS, M. G.; LUND, E. D. Aldehydes, ketones and esters in Valencia orange peel oil. *Journal of Food Science*, v. **34**, p. 502-503, 1970.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. Composition of aqueous essence and essence oil from *Citrus temple*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. **31**, n. 2, p. 334-336, 1983.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. Flavor and compositional comparison of orange essences and essence oils produced in the United States and in Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. **38**, n. 3, p. 799-801, 1990.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. Fresh orange juice flavor: a quantitative and qualitative determination of the volatile constituents. IN: CHARALAMBOUS, G. (Ed.), *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, p. 1479-1492, 1995.

NEPA/UNICAMP - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*. Versão II. 2 ed. Campinas, SP, 2006.

NEVES, M. F.; do VAL, A. M.; MARINO, M. K. The orange network in Brazil. *Fruit Processing*, v. **12**, p. 486-490, 2001.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F. *Estratégias para a Laranja no Brasil*. 1. São Paulo: Editora Atlas 2005.

NEWHALL, W. F.; TING, S. V. Natural antioxidants isolation and identification of α -tocopherol, a vitamin E factor, from orange flavedo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. **13**, p. 281, 1965.

NIEDZ, R. P.; MOSHONAS, M. G.; PETERSON, B.; SHAPIRO, J. P.; SHAW, P. E. Analysis of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) callus cultures for volatile compounds by gas chromatography with mass selective detector. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. **51**, p. 181–185, 1997.

NIST – National Institute of Standards and Technology. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry>> acessado em 30 de outubro de 2011.

NJOROGE, S. M.; KOAZE, H.; MWANIKI, P.; MINH TU, N. T.; SAWAMURA, M. Essential oil of Kenyan *Citrus* fruits: volatiles components of two varieties of mandarins (*Citrus reticulata*) and a tangelo (*C. paradisi* x *C. tangerina*). *Flavour and Fragrance Journal*, v. **20**, p. 74-79, 2005a.

NJOROGE, S. M.; KOAZE, H.; KARANJA, P. N.; SAWAMURA, M. Essential oil constituents of three varieties of Kenyan sweet oranges (*Citrus sinensis*). *Flavour and Fragrance Journal*, v. **20**, p. 80–85, 2005b.

PARRY, E. J. *The Chemistry of Essential Oils and Artificial Perfumes*. Fourth edition, London: D. Van Nostrand Company, 1922.

PEREIRA, C. L. F. *Avaliação da Sustentabilidade Ampliada de Produtos Agroindustriais. Estudo de caso: Suco de Laranja e Etanol*. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2008.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: Perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr Opin Plant Biol*, v. **5**, p. 237-243, 2002.

PIGGOT, J. R. Design questions in sensory and consumer. *Science Food Quality and Preference*, v. **6**, p. 217-220, 1995.

QUEIROZ, E. C.; MENEZES, H. C. Suco de Laranja. IN: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). *Tecnologia de Bebidas: matéria prima, processamento, BPF/ APPCC, legislação e mercado*. São Paulo: Edgard Blücher, 2005, p. 221–254.

RAMOS, L. S.; BEEBE, K. R.; CAREY, W. P.; SANCHES, E.; ERICKSON, B. C.; WILSON, B. E.; WANGEN, L. E.; KOWALSKI, B. R. *Chemometrics, Analytical Chemistry*, v. **58**, n. 5, p. 294R-315R, 1986.

REDD, J. B.; HENDRIX JR., C. L. Processing of natural *citrus* oils and flavor. IN: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. (Eds) *Fruit Juice Processing Technology*. Auburndale: Agscience, 1993, p. 83-109.

REDD, J. B.; SHAW, P. E.; HENDRIX JR., C. M.; HENDRIX, D. L. *Quality control manual for citrus processing plants*. Auburndale (FL): Agscience, Inc., 1996, v. 3.

REINECCIUS, G. *Flavor chemistry and technology*. 2^a. Edição. Boca Raton (FL): Taylor & Francis Group, 2006.

SFARA, V.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Fumigant Insecticidal Activity and Repellent Effect of Five Essential Oils and Seven Monoterpenes on First-Instar Nymphs of *Rhodnius prolixus*. *J. Med. Entomol.*, v. **46**, n. 3, p. 511-515, 2009.

SHAW, P. Aqueous essences. IN: NAGY, S.; SHAW, P. E.; VELDHUIS, M. K. (eds) *Citrus Science and Technology, Volume 1, Nutrition, Anatomy, Chemical Composition and Bioregulation*, 1977a., p. 463–478, The AVI Publishing Company, Westport.

SHAW, P. E. Essential oils. IN: NAGY, S.; SHAW, P. E.; VELDHUIS, M. K. (Eds) *Citrus Science and Technology*. Westport: Publishing Company, 1977b, p. 427–462.

- SHAW, P. E.; COLEMAN, R. L. Quantitative composition of cold-pressed orange oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. **22**, p. 785–787, 1974.
- SIMÃO, S. *Manual de fruticultura*. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1971, 529p.
- SIMÃO, S. *Tratado de fruticultura*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 760p.
- SINGH, N.; SINGH, R. K.; BHUNIA, A. K.; STROSHINE, R. L. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Lebensmittel- Wissenschaft und – Technologie*, v. **35**, p. 720–729, 2002.
- SKOCIBUSIC, M.; BEZIC, N.; DUNKIC, V. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. Growing in Croatia. *Food Chemistry*, v. **96**, p. 20–28, 2006.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. *Sensory Evaluation Practices*. 2nd ed. Boston: Academic Press, 1993, 310p.
- TAKITA, M. A.; BERGER, I. J.; BASÍLIO-PALMIERI, A. C.; BORGES, K. M.; DE SOUZA, J. M.; TARGON, M. L. N. P. Terpene production in the peel of sweet orange fruits. *Genetics and Molecular Biology*, v. **30**, 3 (suppl), p. 841-847, 2007.
- TAO, N-G.; LIU, Y-J.; ZHANG, M-L. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International Journal of Food Science and Technology*, v. **44**, p. 1281–1285, 2009.
- TARELLI, G.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Toxicity to Vapor Exposure and Topical Application of Essential Oils and Monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, v. **102**, n. 3, p. 1383-1388, 2009.
- TAYLOR, B. Fruit and juice processing. IN: ASHURST, P. R. *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. Hereford (UK): Blackwell Publishing Ltd., p. 35-66, 2005
- TERANISHI, R.; SCHULTZ, T. H.; McFADDEN, W. H.; LUNDIN, R. E.; BLACK, D. R. Volatile from oranges. 1. Hydrocarbons. Identified by infrared, nuclear magnetic resonance and mass spectra. *Journal of Food Science*, v. **28**, p. 541-545, 1963.
- TISSERAND, R.; BALACS, T. *Essential oil safety*. Livingstone, London, United Kingdom, 1995.
- VAN BRAMER, S. E. *An introduction to mass spectrometry*. Widener University, Chester PA, 1998.
- VERZERA, A.; TROZZI, A.; DUGO, G.; DI BELLA, G.; COTRONEO, A. Biological lemon and sweet orange essential oil composition. *Flavour and Fragrance Journal*, v. **19**, p. 544–548, 2004.
- VIÉGAS, F. C. P. *A citricultura brasileira*. 2^a. Edição, Campinas, Cargill, 1991.
- VILLANUEVA, N. D. M. *Avaliação do Desempenho de Quatro Métodos de Escalonamento em Testes Sensoriais de Aceitação Utilizando Modelos Normais Aditivos de Análise da Variância e Mapas Internos de Preferência*. 2003. Tese

(Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2003.

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

WEBBER, H. J. History and development of the *citrus* industry. IN: REUTHER, W.; WEBBER, H. J.; BATCHELOR, L.D., ed. *The citrus industry*. Riverside, Univ. of California, v. 1, cap. 1, p. 1-39, 1967.

WEISS, E. A. *Essential Oil Crops*. CAB Intl. N. Y., USA. 1997, p. 417-515.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal Component Analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 2, p. 37-52, 1987

WOLFORD, R. W.; ATTAWAY, J. A.; ALBERING, G. E.; ATKINS, C. D. Analysis of the flavor and aroma constituents of Florida orange juices by gas chromatography. *Journal of Food Science*, v. **28**, p. 320– 28, 1963.

WOLFORD, R. W.; ATTAWAY, J. A. Analysis of recovered natural orange flavor enhancement materials using gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, v. **15**, p. 369–377, 1967.

YAMANAKA, H. T. *Sucos cítricos*. São Paulo: CETESB, 2005. Disponível em < http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/producao_limpa/documentos/sucos_citricos.pdf > acesso em 17 de janeiro de 2009.

ZAMPRONIO, C. G. *Aplicação de Métodos de Análise Multivariada em Espectrometria de Massas para a Determinação de Compostos Orgânicos Voláteis*. 2002. Tese (Doutorado – Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2002.