



Área: Ciência de Alimentos

ÓLEO ESSENCIAL DE CASCA DE LARANJA OBTIDO POR EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

Giulia de Marco^{1*}, Neiva Fátima de Oliveira de Marco¹, Jéssica C. Racoski², Carla Patricia Freitas³, Luciana Ruschel dos Santos³, Jeferson S. Piccin²

¹Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo-UPF, Passo Fundo, RS

²Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, PPGCTA, UPF, RS

³Programa de Pós-graduação em Bioexperimentação, PPGBIOEXP, UPF, RS.

*E-mail: luruschel@upf.br

RESUMO – A laranja é uma das principais culturas no Brasil, sendo que a maior parte da produção é destinada a elaboração de sucos, o que gera uma grande quantidade de resíduos destinados basicamente para ração animal. Contudo, existem importantes componentes na casca da laranja, como o limoneno, com propriedades anti-inflamatórias, antioxidante e antimicrobianas que poderiam ser aproveitados pela indústria. O limoneno é o princípio ativo obtido em maior concentração em óleos essenciais cítricos, aplicado como flavorizante em alimentos, aroma em perfumes e produtos de limpeza. Os óleos essenciais de alta qualidade mantém a integridade dos compostos ativos após o processo extrativo. Partindo deste princípio, a aplicação de fluidos em estágio supercrítico possui uma boa aplicabilidade em matérias orgânicas devido a solubilidade de compostos orgânicos e a seletividade com o meio. Neste trabalho utilizou-se a extração supercrítica com combinações de temperatura e pressão para seletividade de compostos puros, sendo que com pressão de 125 bar e 35°C obteve-se rendimento de 6,3% de limoneno puro em 2h, comprovado pela cromatografia gasosa. A extração com fluido supercrítico é uma técnica promissora para aplicação em processos de extração, uma vez que proporciona a obtenção de extratos de maior qualidade com um solvente não tóxico, a baixas temperaturas e sem resíduos de solventes orgânicos.

Palavras-chave: Cromatografia, fluidos, limoneno, rendimento, resíduos.

1 INTRODUÇÃO

A laranjeira é uma das árvores mais cultivadas no Brasil e seu suco é uma das bebidas líderes em consumo mundial. Entretanto, durante a produção, apenas metade do peso da fruta é transformado em suco, sendo o resíduo gerado (cascas, sementes e polpas) geralmente transformado em farelo peletizado para ração animal (REZZADORI; BENEDETTI, 2009). Este resíduo, além de não poder ser acumulado indefinidamente no local onde foi produzido, gerando dano ambiental, representa perda de matéria-prima e energia (BENELLI, 2010).

Os óleos essenciais são substâncias aromáticas e flavorizantes voláteis que se originam do metabolismo secundário de plantas aromáticas. Podem ser encontrados em todo tecido vivo de plantas, concentrados nas cascas, folhas, caules, raízes, flores, rizoma e sementes (GOMES et al., 2010). De maneira geral são instáveis na presença de luz, calor, umidade, ar e metais (SIMÕES et al., 2007). Óleos essenciais da espécie *Citrus* têm demonstrado propriedades antimicrobianas sobre leveduras e bactérias (PIRES; PICCOLI, 2012), o que torna a extração do óleo essencial da casca de laranja uma opção rentável para os resíduos da laranja, proporcionando benefícios sócio - econômicos e ambientais (REZZADORI; BENEDETTI, 2009).

O limoneno é o componente majoritário (cerca de 90%) do óleo extraído da casca da laranja. Suas principais aplicações são como flavorizantes em alimentos, aroma em perfumes e produtos de limpeza, intermediário químico, fabricação de resinas de politerpeno, solvente biodegradável, fabricação de adesivos e borrachas e aditivo para combustível. Exibe baixa toxicidade para a saúde humana e atividade preventiva frente a vários tipos de câncer (PIRES; RIBEIRO; MACHADO, 2017).

Existem diferentes métodos de extração para isolar óleos essenciais de plantas aromáticas, sendo o principal hidro destilação, destilação a vapor, extração por solventes orgânicos e extração com fluido supercrítico, mas determinados óleos são muito instáveis e não suportam aumentos de temperatura. A extração supercrítica baseia-se no princípio da solubilidade dos compostos orgânicos em fluidos supercríticos. O gás em condição supercrítica apresenta baixa viscosidade e elevada densidade, permitindo extração de solutos a partir de matrizes sólidas. Os óleos essenciais obtidos são de alta qualidade, uma vez que este processo mantém a integridade dos compostos ativos. Além disso, considera-se esta tecnologia como limpa, pois se utilizam apenas solventes atóxicos com elevada solubilidade. Como desvantagem ressalta-se o alto grau de periculosidade devido à alta pressão utilizada (SILVEIRA et al., 2012).

Assim, neste trabalho aplicou-se um processo de extração não convencional em casca de laranja para avaliar o comportamento do sistema quanto ao rendimento de extração e seletividade de biocompostos.



2 MATERIAL E MÉTODOS

Os resíduos da produção do suco de laranja foram recolhidos de empresa privada de Passo Fundo/RS, que gera em média 850 kg/mês de casca. Os bagaços foram limpos e fragmentados, utilizando-se apenas a parte superior, onde se encontram as bolsas de óleo. Na sequência, foram desidratados a 50°C em estufa com circulação de ar forçado por 24 horas. Após, a matéria-prima foi triturada e submetida à separação e classificação granulométrica em agitador de peneiras visando fracionar a matéria-prima e padronizar o diâmetro médio das partículas em 14-42 mesh, sendo após embalada a vácuo e congelada (-12°C) até a realização dos ensaios.

2.1 EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

O sistema consiste em um cilindro de CO₂ com tubo pescador (White Martins 99,99%) que alimenta a linha de extração. A linha de solvente (CO₂) é imersa em um banho termostático de circulação para refrigeração programada para manter a temperatura inferior a 6°C. A bomba na pressão adequada para cada condição encaminha o CO₂ pressurizado à célula de extração, imersa em banho termostático, mantido a uma temperatura de trabalho e o aquecimento da válvula micrométrica tipo agulha termoaquecida, que mantém temperatura constante de 65°C por meio de resistência elétrica. Após, inicia-se o processo de extração, abrindo passagem pela válvula utilizada para iniciar a despressurização do solvente, permitindo o controle do fluxo de saída do soluto/solvente concomitantemente com a válvula micrométrica. O soluto é coletado em frascos âmbar e o fluxo de saída de CO₂ é medido através rotâmetro (RACOSKI, 2018).

Utilizou-se para cada extração 85g de casca de laranja e como fatores independentes pressão de 80 e 125 bar e temperatura de 35°C, demonstrando potencial da condução para obtenção de limoneno (MIRA et al., 1999). Outros parâmetros fixados foram vazão de CO₂ (1L/min) e tempo estático (30 min). O percentual de rendimento de extração foi determinado pela razão $X_{O,SIF}$, relacionando a massa total do extrato ($M_{extrato}$) e a massa de alimentação de matéria-prima (F) em base seca, de acordo com a equação 1:

Equação 1- Percentual de rendimento

$$X_{O,SIF} = \left(\frac{M_{extrato}}{F} \right) \times 100$$

2.2 DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA CG-MS

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Utilizou-se uma coluna DX-5 com 30 m x 0,25 mm com partículas de 0,25 µm. As condições do CG foram: Gás de arraste: Hélio na vazão de 1 mL. min⁻¹, temperatura do injetor: 250°C, temperatura do detector: 250°C, temperatura da coluna: 50 °C (5 min); 5°C min⁻¹ até 180 °C (0 min); 3°C min⁻¹ até 28 °C (0 min), volume de amostra injetada: 1 µL. A amostra foi diluída 10 x (100 µL da amostra em 900 µL de hexano) (BONATO et al., 1997). O óleo extraído foi analisado por espectroscopia na região do infravermelho (Perkin Elmer FT-IR Spetrum BxATR), empregando 4 mg de cada amostra, sendo que o registro dos espectros é dado em transmitância (%T).

A determinação da concentração de compostos fenólicos totais foi realizada por meio da reação de oxirredução com reagentes de Folin-Ciocalteu (RFC) o qual reage com as hidroxilas presentes nos polifenóis. Em ambiente escuro, adicionou-se em tubos de ensaio 1 mL do extrato diluído em metanol, 5 mL de água destilada, 1 mL de etanol e 0,5 mL de RFC, agitando-se por 3 segundos e adicionando-se 1 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃ 7,5%), agitando-se novamente para alcalinizar a solução. Após, a solução foi deixada em repouso em temperatura ambiente e abrigo de luz por 1 hora, previamente as leituras em espectrofotômetro a 765 nm. Um branco foi preparado nas mesmas condições, substituindo o extrato pela mesma quantidade de metanol. As leituras foram realizadas em triplicata (SINGLETON; ROSSI, 1965). O ácido gálico foi utilizado como padrão, nas concentrações de 0,01; 0,03; 0,05; 0,07 e 0,09 mg.mL⁻¹ para construir a curva de calibração e os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g amostra seca).

2.3 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE - FRAP

A atividade antioxidante foi avaliada pela redução dos íons de ferro FRAP (*Ferric Redducing Antioxidant Power*) (KUSKOSKI et al., 2005). Uma alíquota de 200 µL de extrato foi adicionada de 200 µL de solução de cloreto férrico 3 mM. Os tubos foram deixados por 30 minutos a 37 °C e adicionou-se 3600 µL da solução TPTZ (2,4,6-tris(tripiridil)-S-triazine), mantendo-se em ambiente escuro por 10 minutos. Após foi realizada leitura em espectrofotômetro a 620 nm e a quantificação com base em curva padrão de ácido gálico, sendo os resultados foram expressos em µM ácido gálico/ g de amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO



A extração supercrítica foi aplicada a 80 bar/35°C e a 125 bar/35°C, sendo que ambas geraram uma curva bem delineada, cada etapa da extração bem definidas. O extrato obtido a 125 bar/ 35°C mostrou rendimento (6,3%) três vezes superior à extração de 80 bar/ 35°C (rendimento 2,09%). No perfil cromatográfico as extrações (Figuras 1 e 2) apresentaram um único pico.

Figura 1- Perfil cromatográfico CG-MS do óleo da casca da laranja da extração supercrítica 80 bar /35°C.

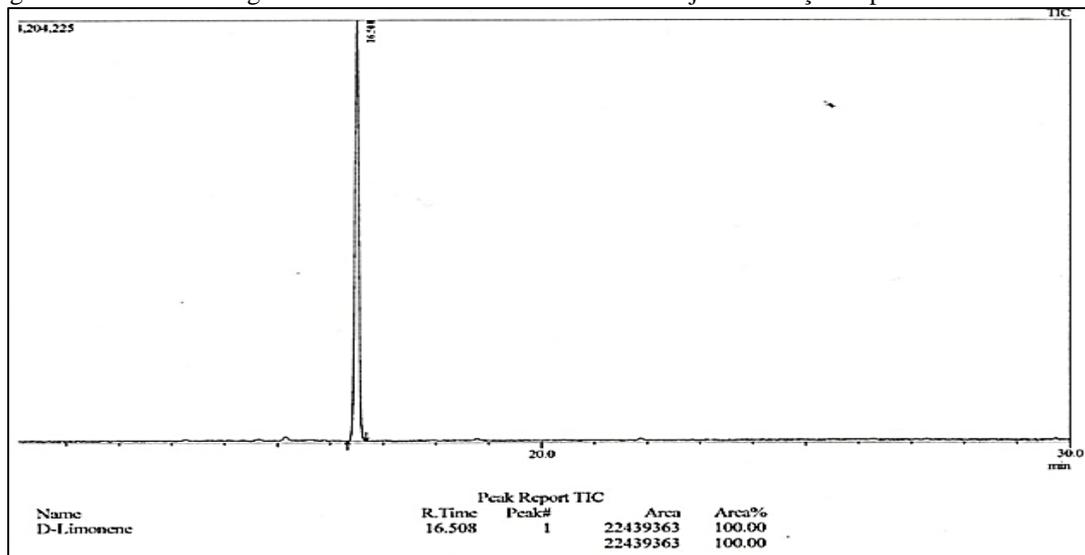
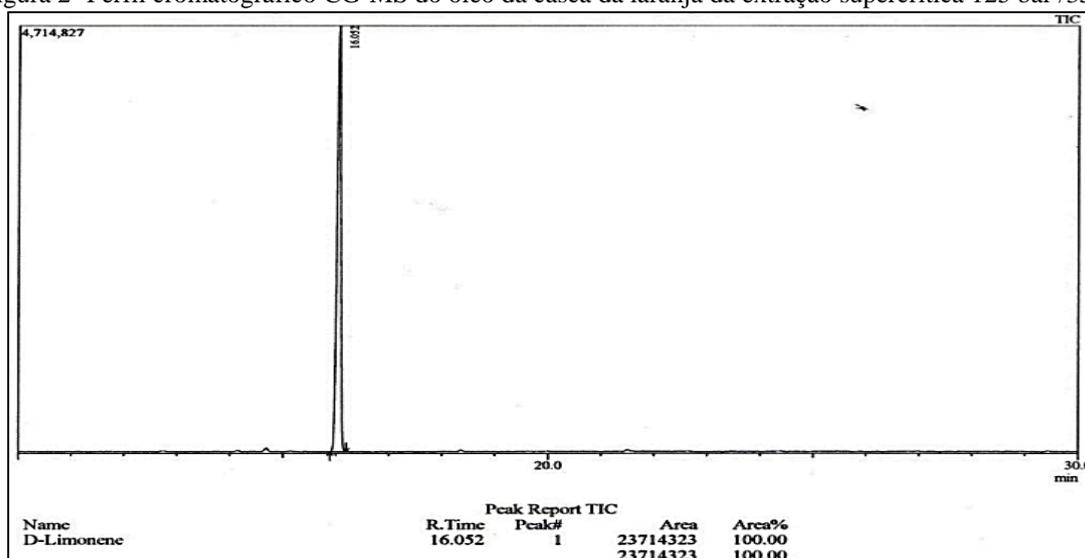


Figura 2- Perfil cromatográfico CG-MS do óleo da casca da laranja da extração supercrítica 125 bar /35°C.



Os dados obtidos nas análises de caracterização por cromatografia gasosa, fenólicos totais e análise antioxidante (FRAP) podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização do extrato de casca de laranja por extração com fluido CO₂ supercrítico.

Amostra	CG	Concentração de fenólicos (mg EAG/g amostra seca)	FRAP [] ácido Gálico µg/mL
Limono			
MP Casca Laranja Antes	-	9,47	1,137,932
MP Casca Laranja Pós	-	12,18	3,002,483
Óleo essencial de Casca Laranja	99,99%	31,86	249,354

O uso de CO₂ puro foi eficaz na extração de compostos fenólicos, como detalhado por Benelli et al. (2010), que obtiveram rendimento de fenóis a partir de resíduo de laranja entre 9 a 36 mg EAG/g extrato. Através da FRAP observou-



se que o extrato analisado neste estudo apresenta atividade antioxidante significativa, demonstrando possível aplicabilidade na extração de antioxidantes naturais.

Para a espectroscopia no infravermelho, ao compararmos dados da literatura (Figura 3) com a leitura obtida (Figura 4), verifica-se que as bandas de absorção compreendida nas regiões de 2724 a 3077 cm^{-1} no gráfico são atribuídas a estiramentos C-H fracas resultantes de vibrações de alquenos e vibrações de deformação axial da ligação C=C acoplada com a vibração de deformação axial das ligações C-C adjacentes, nas regiões 889 a 1640 cm^{-1} (OLIVEIRA, 2012).

Figura 3 - FTIR Limoneno (NIST, 1967).

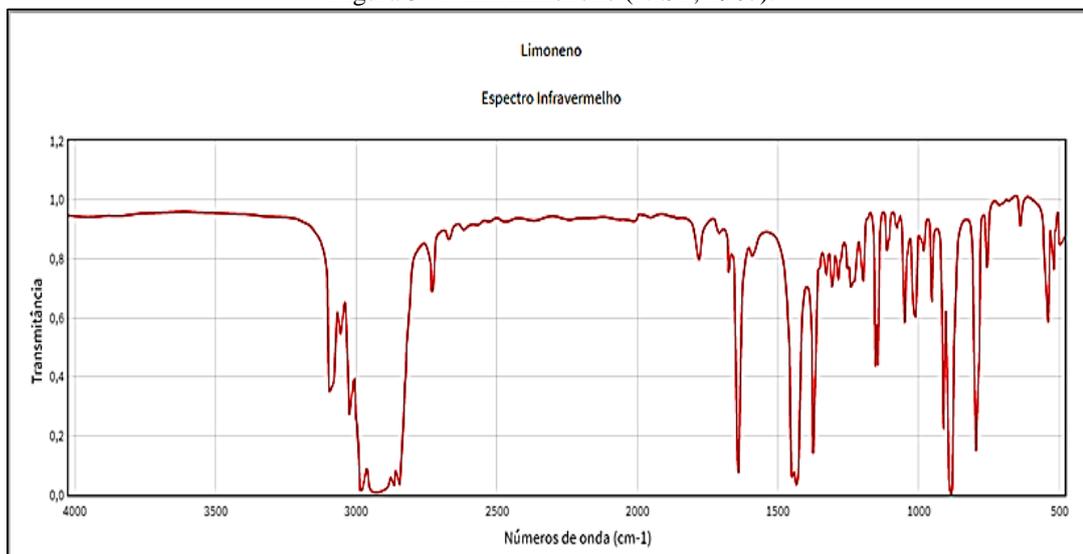
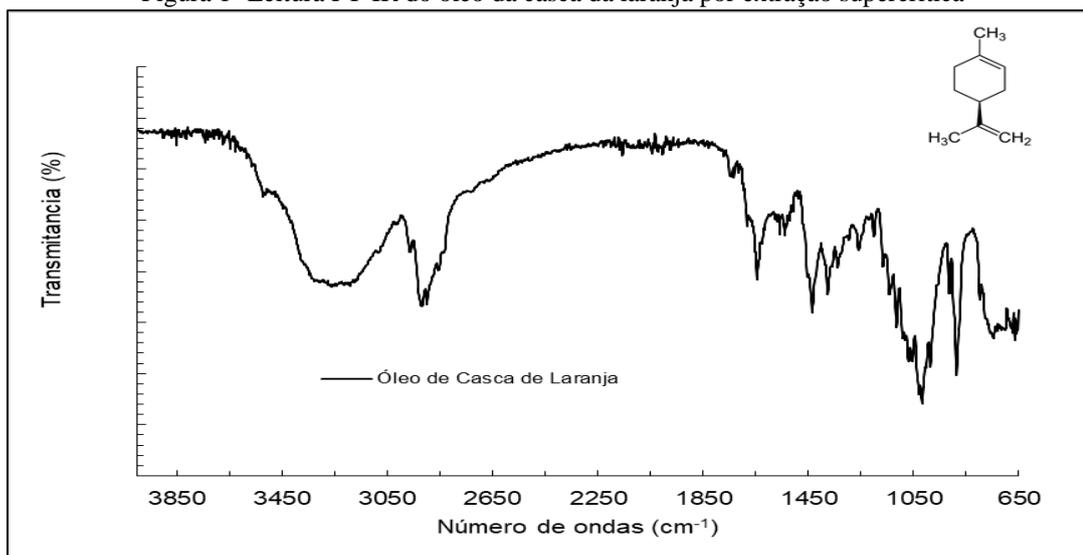


Figura 1- Leitura FT-IR do óleo da casca da laranja por extração supercrítica



4 CONCLUSÃO

Foi possível através de processo supercrítico a obtenção seletiva do composto bioativo limoneno em alta concentração extraído do resíduo casca da laranja. Caso a empresa parceira destinasse o resíduo gerado em um mês para obtenção de óleo essencial de laranja ganharia 54,4 Kg/mês se o sistema fosse aplicado em escala piloto. Destaca-se que a casca da laranja possui variação de R\$0,30/Kg enquanto o óleo essencial pode atingir R\$200,00/Kg, o que justificaria o investimento em tecnologia para apoiar o crescimento da indústria com economia e valorização ambiental.

5 AGRADECIMENTOS

A Universidade de Passo Fundo (UPF) e todos os colaboradores deste projeto.



6 REFERÊNCIAS

- BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração.** 2010. 273 f. - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - Sc, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/93869/281181.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 20 abr. 2018.
- BONATO, P. S.; BRAGA, G. L.; COLLINS, C. H. **Introdução a métodos cromatográficos coord.** 1997, 279 f. - Campinas: Ed. Universidade Estadual de Campinas, 1997.
- Composição química de seis frutas tropicais consumidas na bahia.** 2010. 118 f. - Programa de pós-graduação em química, Universidade federal da Bahia, Salvador, 2010. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufba.br:8080/ri/bitstream/ri/10639/1/Tese%20Larissa%20Rezende.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2018.
- DEITOS, A.; KIELING, A. G.; FERNANDES, I. J. **Avaliação do resíduo casca de laranja na obtenção de pectina e óleo essencial.** 2014. 9 f. - Curso de Engenharia e Ambiente, Universidade do Vale do Rio dos Sinos - unisinos, Porto Alegre - Rs, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/274253385_Avaliacao_da_Extracao_de_Oleo_Essencial_do_Residuo_Casca_de_Laranja>. Acesso em: 20 abr. 2018.
- FERNANDES, I. J.; KIELING, A. G.; AGOSTI, A. **Extração e caracterização de óleo essencial de laranja obtido do resíduo casca de laranja.** São Leopoldo: Abes, 2015. 6 p. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/274253516_EXTRACAO_E_CHARACTERIZACAO_DE_OLEO_ESSENCIAL_DE_LARANJA_OBTIDO_DO_RESIDUO_CASCA_DE_LARANJA>. Acesso em: 23 maio 2018.
- INSTITUO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz.** São Paulo: O Instituto, 2005. 1018p.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar actividade antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
- LOPES, A. L. D. *et al.* **Extração e determinação do teor de limoneno na casca da laranja pêra.** In: SIMPÓSIO DE BASE EXPERIMENTAL DAS CIÊNCIAS NATURAIS, 9., 2011, Santo André. Extração e determinação do teor de limoneno na casca da laranja pêra. Santo André - Ufabc, 2011. p. 1 - 2. Disponível em: <http://becn.ufabc.edu.br/guias/processos_transformacao/resumo/PT_C2_N_01.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2018.
- MIRA, B.; BLASCO, M.; BERNA, A.; SUBIRATS, A. **Supercritical CO₂ Extraction of Essential Oil from Orange Peel. Effect of Operation Conditions on the Extract Composition.** J. Supercrit. Fluids, n. 14, p. 95 - 104, 1999.
- NEVES, M. F. *et al.* **O retrato da citricultura brasileira.** Ribeirão Preto: Markestrat, 2016. 138 p. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/download/Retrato_Citricultura_Brasileira_MarcosFava.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2018.
- OLIVEIRA, M. B. **Extração, caracterização e avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do Citrus Limon Linneo (Limão) frente ao mosquito Aedes aegypti.** 2012. 77 f. - Programa de Pós-graduação em química, Universidade federal do Maranhão, São Luís, 2012. Disponível em: <<https://tedebc.ufma.br/jspui/bitstream/tede/962/1/Dissertacao%20Marlucy.pdf>>. Acesso em 27 nov. 2018.
- PIRES, T. C. M.; RIBEIRO, M. G. T. C.; MACHADO, A. A. S. C.. **Extração do r-(+)-limoneno a partir das cascas de laranja: avaliação e otimização da verduira dos processos de extração tradicionais.** 2017. 31 f. - Curso de Ciências, Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal, 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/Extracao_Limoneno_QN_2017.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2018.
- PIRES, T. C.; PICCOLI, R. H. **Efeito inibitório de óleos essenciais do gênero citrus sobre o crescimento de micro-organismos.** 2011. 8 f. - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras (mg), Brasil, 2012. Disponível em: <<http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v71n2/v71n2a21.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2018.
- RACOSKI, J. C. **Obtenção de biocompostos da erva-mate (*ilex paraguariensis*) por extração supercrítica.** 2018. 83 f. - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.
- REZENDE, L. C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia.** 2010. 118 f. - Programa de pós-graduação em química, Universidade federal da Bahia, Salvador, 2010. Disponível em: <
- REZZADORI, K; BENEDETTI, S. **Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja.** 2009. 11 f. - Curso de Engenharia e Ambiente, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009. Disponível em: <<http://www.advancesincleanerproduction.net/second/files/sessoes/6a/4/K.Rezzadori-ResumoExp-6A-4.pdf>>. Acesso em: 29 maio 2018.
- SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S.; COSTA, E. F. **Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais.** 2012. 15 f. - Engenharia Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES, 2012. Disponível em:



<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20exatas%20e%20da%20terra/levantamento%20e%20analise.pdf>>. Acesso em 21 nov. 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent.** American Journal of Enology and Viticulture, v.16, p.144-158, 1965. Disponível em: <<http://ajevonline.org/content/16/3/144>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

