

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DE CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E ENGENHARIAS
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

YASMIN THALJI CUSIN

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *PETITGRAIN* (FOLHA) DE *CITRUS*
DELICIOSA TENORE POR ARRASTE A VAPOR EM PRESSÃO SUB
ATMOSFÉRICA**

CAXIAS DO SUL

2020

YASMIN THALJI CUSIN

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *PETITGRAIN* (FOLHA) DE *CITRUS DELICIOSA* TENORE POR ARRASTE A VAPOR EM PRESSÃO SUB ATMOSFÉRICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química pela Universidade de Caxias do Sul na Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias.

Orientador: Prof. Dr. Luis Antonio Rezende Muniz

CAXIAS DO SUL

2020

YASMIN THALJI CUSIN

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *PETITGRAIN* (FOLHA) DE *CITRUS DELICIOSA* TENORE POR ARRASTE A VAPOR EM PRESSÃO SUB ATMOSFÉRICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química pela Universidade de Caxias do Sul na Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias.

Aprovado em 18/12/2020

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luis Antonio Rezende Muniz
Universidade de Caxias do Sul - UCS

Prof. Dr. Gabriel Fernandes Pauletti
Universidade de Caxias do Sul - UCS

Profa. Dra. Camila Baldasso
Universidade de Caxias do Sul - UCS

Dedico este trabalho à minha maior
inspiração em todos os campos da vida,
minha mãe e melhor amiga Shadia. Eu te
amo infinito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Shadia Khalil Thalji e Enio Cusin por todos anos de apoio emocional e financeiro durante a graduação, que sempre me colocaram em primeiro lugar e jamais deixaram faltar nada para minha formação profissional e pessoal.

Agradeço também ao meu irmão Bruno Thalji Cusin pela presença, companheirismo e por me aguentar em todos momentos e agradeço a minha avó mais que especial, Walda Maria Pasini Thalji, por ser minha conselheira em todos os passos dessa caminhada e por sempre se preocupar com minha saúde mental acima de tudo.

Às minhas amigas e colegas da graduação, Vanessa Arcari, Laura Gallina Moscone, Letícia Funke Marini, Nathália Ferronato Livinalli e Amanda Krauchemberg por todos os momentos compartilhados com toda amizade e apoio que eu poderia pedir. Além disso, aos meus amigos Arian Braido, Caroline Schenato e Nina Bogoni por todo o amor e paciência nos momentos em que precisei desabafar.

Ao meu orientador, professor Luis Antonio Rezende Muniz, por toda orientação e otimismo no decorrer do projeto, ao professor Gabriel Fernandes Pauletti e ao engenheiro Wendel Paulo Silvestre por toda dedicação, ajuda e apoio.

E por último, aos meus professores durante a graduação, obrigada por todos os ensinamentos e momentos de inspiração e admiração.

RESUMO

O presente trabalho apresenta a extração de óleo essencial por arraste a vapor, uma das mais importantes formas de extração de óleos essenciais, através de um equipamento desenvolvido para permitir extrações em pressões sub atmosféricas, garantindo a extração dos óleos essenciais presentes na planta a uma temperatura mais baixa. O material vegetal utilizado foi a folha de *Citrus deliciosa* Tenore, também conhecida como tangerina montenegrina e o objetivo do trabalho foi verificar se é possível extrair óleos essenciais utilizando vácuo e, se ao utilizá-lo e baixar a temperatura de ebulição do fluido de extração, a composição e o rendimento do óleo são alterados. Para isso, foram realizadas extrações em triplicata, em quatro pressões diferentes no aparato desenvolvido, onde foram medidos e coletados os extratos para análise em cromatografia gasosa com detector por ionização de chama. O volume de extrato diminui com a diminuição da pressão. O trabalho proposto mostra-se extremamente promissor, uma vez que as análises permitiram avaliar a composição do óleo essencial a cada pressão e foi verificado que com a diminuição da pressão, houve um aumento na concentração de metil-N-metil antranilato, o componente majoritário no óleo essencial de folha de *C. deliciosa* Ten, que possui um grande interesse comercial por ser largamente utilizado em cosméticos e produtos de limpeza. Observou-se que quanto menor a pressão do sistema, ou seja, quanto mais vácuo é aplicado, mais concentrado o componente se apresenta, apontando um grande potencial econômico para este processo inovador.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Arraste a vapor. Extração a vácuo.

ABSTRACT

The present work shows the essential oil steam distillation extraction, one of the most important methods of essential oils extraction, through an equipment developed to allow sub-atmospheric pressures processes, ensuring the extraction of essential oils present in the plants at a lower temperature. The organic material adopted was the leaf of *Citrus deliciosa* Tenore, also known as mandarin and the study's purpose was to verify whether it is possible to extract essential oils using vacuum and if doing so and lowering the extraction fluid's boiling temperature, the composition and yield of the oil are changed. To do so, the extractions were made in triplicate and at four different pressures on the developed equipment, where the extracts were measured and collected for further analysis using gas chromatography with flame ionization detector. The extract's volume decreases with the pressure's decrease. The study appears to be promising, as the analysis have allowed to evaluate the essential oil composition at every pressure and it was observed that with the pressure's decrease, there was an increase at the major component methyl N-methyl anthranilate's concentration, therefore concluding that the lower the pressure operates, the higher is the major component's concentration, showing a great economic potential for this innovatory process.

Palavras-chave: Essential oils. Vacuum extraction. Steam distillation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais terpenos encontrados em óleos essenciais.....	19
Figura 2 – <i>Citrus deliciosa</i> Tenore.....	24
Figura 3 - Metil-N-metil antranilato.....	25
Figura 4 - Esquema de extração por fluido supercrítico.	26
Figura 5 - Sistema de hidrodestilação onde a amostra está em contato direto com a água.	27
Figura 6 - Aparelho de extração do tipo <i>clevenger</i>	28
Figura 7 - Sistema de destilação por arraste a vapor em escala piloto.	29
Figura 8 - Tipos de cromatografias.....	32
Figura 9 - Esquema de um processo de cromatografia a gás.	33
Figura 10 - Esquema representativo de um espectrômetro de massas.	35
Figura 11 - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.	36
Figura 12 - Sistema de extração sob pressão atmosférica.	38
Figura 13 - Projeto do sistema de extração sob vácuo.	39
Figura 14 - Pomar experimental e plantas de coleta de material.	40
Figura 15 - Folhas separadas dos galhos.	41
Figura 16 - Folhas no secador.....	42
Figura 17 - Extração sob pressão atmosférica em triplicata por 4 horas.....	43
Figura 18 - Extração sob pressão atmosférica em triplicata por 1 hora.	44
Figura 19 - Sistema fechado para determinação do volume de condensado.....	46
Figura 20 - Sistema de extração sob vácuo.....	46
Figura 21 - Rendimento de extração por pressão de operação nos dois sistemas.....	50
Figura 22 - Curva de pressão de operação e rendimento de extração para o aparato....	51
Figura 23 - Óleo dividido no <i>clevenger</i>	52
Figura 24 - Óleo separado no <i>clevenger</i>	52
Figura 25 - Imagens térmicas do sistema de extração a 610 mmHg.....	56
Figura 26 - Imagens térmicas do sistema de extração a 460 mmHg.....	58
Figura 27 - Imagens térmicas do sistema de extração a 310 mmHg.....	59

Figura 28 - Relação entre rendimento de extração, temperatura de operação e concentração de metil-N-metil antranilato.	60
Figura 29 - Gráfico da quantidade de cada componente em cada pressão.....	62
Figura 30 - Gráfico da pressão de operação pela concentração de metil-N-metil antranilato no processo de extração a vapor.....	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais óleos essenciais e suas aplicações industriais.....	16
Quadro 2 - Vantagens e desvantagens da cromatografia gasosa.....	33
Quadro 3 - Componentes presentes na extração tradicional com clevenger.	53
Quadro 4 - Componentes presentes no processo de extração a pressão atmosférica. .	54
Quadro 5 - Componentes presentes na extração de 610 mmHg.....	55
Quadro 6 - Componentes presentes na extração de 460 mmHg.....	56
Quadro 7 - Componentes presentes na extração de 310 mmHg.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ensaio e suas respectivas pressões de operação.....	45
Tabela 2 - Pressão, volume extraído e rendimento de cada extração	49
Tabela 3 - Temperatura calculada pela Equação de Antoine para cada extração	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	14
1.1.1	Objetivo geral	14
1.1.2	Objetivos específicos	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	15
2.1.1	Definição	15
2.1.2	Histórico e aplicações	15
2.1.3	Características e propriedades	16
2.1.4	Composição	17
2.1.4.1	Monoterpenos.....	20
2.1.4.2	Sesquiterpenos.....	21
2.1.5	O mercado de óleos essenciais	21
2.2	O GÊNERO <i>CITRUS</i>	23
2.2.1	<i>Citrus deliciosa</i> Tenore	23
2.2.1.1	Óleo essencial da folha de <i>Citrus deliciosa</i> Tenore.....	24
2.3	PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS	25
2.3.1	Extração por fluido supercrítico	26
2.3.2	Extração por hidrodestilação	27
2.3.3	Extração por destilação por arraste a vapor	28
2.3.3.1	Vácuo.....	30
2.4	FRACIONAMENTO DO ÓLEO.....	30
2.5	ANÁLISE DE EXTRATOS	31
2.5.1	Cromatografia	31
2.5.1.1	Cromatografia gasosa.....	32
2.5.1.1.1	<i>Cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC)</i>	34
2.5.1.1.2	<i>Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EM)</i>	34

3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	MATERIAIS	37
3.1.1	Material vegetal.....	37
3.1.2	Equipamentos para processamento da folha	37
3.1.3	Equipamentos de extração	37
3.1.4	Equipamentos de análise	39
3.2	MÉTODOS	39
3.2.1	Coleta do material vegetal	39
3.2.2	Processamento do material vegetal	40
3.2.3	Determinação do teor total de óleo da planta.....	42
3.2.4	Determinação da composição padrão de óleo da planta.....	43
3.2.5	Determinação do volume de condensado para projeto do sistema de extração sob vácuo.....	44
3.2.6	Determinação da influência da pressão no rendimento e composição do óleo	45
3.2.7	Verificação da eficiência do aparato de extração.....	46
3.2.8	Análise dos extratos	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	64
5.1	CONCLUSÕES	64
5.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	64
	REFERÊNCIAS	66
	APÊNDICE	70

1 INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são misturas voláteis de compostos produzidos por metabolismos de plantas e podem ser isolados da mesma apenas por métodos físicos como destilação e prensagem (BASER; BUCHBAUER, 2010). Possuem atividades biológicas como efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos, antifúngicos, antivirais e anticancerígenos, podendo ser explorados e aplicáveis dentro das mais diversas áreas da saúde, agricultura, cosmética e indústria alimentícia (THORMAR, 2011).

A *Citrus deliciosa* Tenore faz parte da família *Rutaceae* (LADANIYA, 2008). O óleo essencial de suas folhas é conhecido como *petitgrain* e é composto principalmente pelos monoterpenos limoneno e linalol, além de metil-N-metil antranilato (DUGO; DI GIACOMO, 2002; BASER; BUCHBAUER, 2010). O metil-N-metil antranilato possui alto valor comercial por ser utilizado como fragrância em cosméticos (SCCS, 2011).

A extração de óleos essenciais pode ser feita por inúmeros métodos, sendo o arraste a vapor um dos mais utilizados em escala industrial por sua simplicidade, capacidade de processar grandes quantidades de material e baixo custo (PIRES, 2017). Porém, conforme Wu *et al.* (2019), as extrações realizadas a pressão atmosférica e altas temperaturas desencadeiam reações de hidrólise e perda de componentes, comprometendo assim, a atividade biológica dos óleos essenciais. Considerando que os óleos essenciais possuem compostos sensíveis ao calor e que são facilmente oxidados em altas temperaturas, que o ambiente de extração submetido a vácuo facilita a interação e transferência de massa entre o material vegetal e o vapor e que os óleos mais puros são os extraídos sob baixas pressões, observa-se a necessidade de estudo de um sistema de extração sob vácuo (WU *et al.*, 2019).

Diante disso, o presente trabalho visa analisar o processo de extração de óleos essenciais por arraste a vapor com acoplamento de bomba de vácuo para diminuição da temperatura de extração. Assim, torna-se possível também, analisar a composição do óleo variando a pressão, observar e determinar a relação entre rendimento, pressão e temperatura na extração através de dados experimentais, analisar a qualidade do óleo extraído, seu grau de pureza e a temperatura de extração e determinar a relação entre a pureza do óleo e o valor de mercado do mesmo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade técnica de extração do óleo essencial da folha de *Citrus deliciosa* Tenore sob pressão sub atmosférica.

1.1.2 Objetivos específicos

Projetar um processo para extração de óleos essenciais por arraste a vapor a baixas pressões.

Avaliar a relação entre rendimento pelo par pressão/temperatura de extração do óleo.

Analisar a composição do óleo essencial ao variar o par pressão/temperatura do sistema.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

2.1.1 Definição

As plantas possuem substâncias com metabolismos primários (imprescindíveis e que estão diretamente ligados à fotossíntese) e metabolismos secundários, que não possuem atividade e importância aparente para a planta, provêm do metabolismo primário e são chamados de princípios ativos. São eles os óleos essenciais, os taninos, resinas, alcaloides, etc. (MORAIS, 2006).

Os óleos essenciais, doravante referidos também como OE, são misturas complexas de compostos voláteis de origem vegetal que podem ser obtidos e isolados somente por processo de separação física como destilações ou outro método adequado de uma planta inteira ou parte de uma planta (BRASIL, 2007; BASER; BUCHBAUER, 2010).

2.1.2 Histórico e aplicações

Óleos essenciais são conhecidos pela humanidade há milênios. Antes da medicina moderna, eram utilizados para combater parasitas e dores físicas e mais tarde começaram a ser utilizados para a produção de sabão até que, no século XIX, juntamente com o aumento da produção de produtos químicos sintéticos, houve um aumento grande da produção de OE (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Os OE fazem parte do cotidiano da vida moderna, podendo ser usados em diversas áreas (BASER; BUCHBAUER, 2010). Podem ser utilizados na indústria alimentícia como aromatizante, na de cosméticos e perfumaria e na farmacêutica (SILVA SANTOS *et al.*, 2006). Além disso, podem ser utilizados como aditivos para a alimentação animal, aromatizantes na indústria de cigarros, em purificadores de ar e desodorizantes, nas áreas de medicina, farmácia, balneologia, massagem e homeopatia,

como biocidas e repelentes de insetos e também como material de partida para síntese química de compostos (BASER; BUCHBAUER, 2010).

O Quadro 1 expõe alguns dos principais óleos essenciais largamente utilizados industrialmente, juntamente com o nome da planta de onde pode ser retirado e sua respectiva aplicação dentro da indústria.

Quadro 1 - Principais óleos essenciais e suas aplicações industriais

Produto isolado do óleo essencial	Fonte	Aplicação
Anetol	Anis	Aromas, fragrâncias e expectorantes
Cânfora	Cânfora	Expectorantes
Citral	Eucalipto, capim-limão, citronela	Fragrâncias
Citronelal	Citronela, eucalipto	Fragrâncias
Citronelol	Capim-limão, eucalipto, citronela, gerânio, rosa, sabina	Fragrâncias
Eucaliptol	Eucalipto	Composições farmacêuticas e expectorantes
Eugenol	Cravo	Composições farmacêuticas e tabagistas
Linalol	Citronela, jasmim, pau-rosa brasileiro	Fragrâncias
Geraniol	Citronela, gerânio, palmarosa, rosa	Fragrância
Limoneno	Laranja, limão	Aromas, fragrâncias e solventes
Mentol	Eucalipto, hortelã, hortelã-pimenta	Composições farmacêuticas, expectorantes, tabagistas
Timol	Tomilho	Expectorantes e composição oral

Fonte: Adaptado de Silva Santos *et al.* (2006).

2.1.3 Características e propriedades

Os óleos essenciais são, de forma geral, ácidos e picantes ao paladar humano, possuem comportamento instável ao entrar em contato com atmosferas úmidas, quentes,

ou até mesmo ao entrar em contato com luz e ar e são, após o processo de extração, incolores ou levemente amarelados (PIRES, 2017). Possuem baixa solubilidade em água e alta solubilidade em solventes orgânicos e outras substâncias hidrofóbicas (THORMAR, 2011).

Possuem odores característicos, alta oleosidade, volatilizam a temperatura ambiente e podem ser encontrados em forma de gotículas entre as células de diversas partes das plantas, seja em sementes, cascas, flores, caules, raízes e folhas (SARTOR, 2009). Podem ser encontrados na parte aérea da menta e do gerânio, nas flores da jasmim e da rosa, nas folhas do eucalipto e do capim limão, nos frutos da laranja e do limão, nas sementes da cenoura e da erva doce, no lenho da cabreúva e do pau-rosa, e nas raízes do vetiver e da angélica (KOKETSU; GONÇALVES, 1991).

As moléculas que compõe os óleos essenciais podem ser degradadas de diversas formas e com certa facilidade, provocando modificações nas propriedades e comprometendo a inocuidade do óleo essencial. Sendo assim, os OE são considerados instáveis, fazendo com que a sua conservação seja difícil. Uma vez retirados da planta, é recomendado lacrá-los e congelá-los ao abrigo da luz até posterior manuseio para análises (MORAES, 2012).

Os óleos essenciais comercializados não são necessariamente idênticos aos óleos presentes na planta, ou seja, não são uma amostra que represente exatamente a composição do óleo essencial daquela planta. Para que a composição seja exatamente a mesma, os OE não podem ter sofrido nenhum tipo de oxidação (BASER; BUCHBAUER, 2010).

2.1.4 Composição

Todas plantas possuem capacidade de produzir óleos essenciais, porém nem sempre elas produzem em quantidades significativas para que possuam relevância comercial, muitas vezes as plantas possuem apenas traços de OE (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Existe um número muito grande de óleos essenciais e uma ampla variação na composição dos mesmos (BASER; BUCHBAUER, 2010). Os óleos essenciais podem,

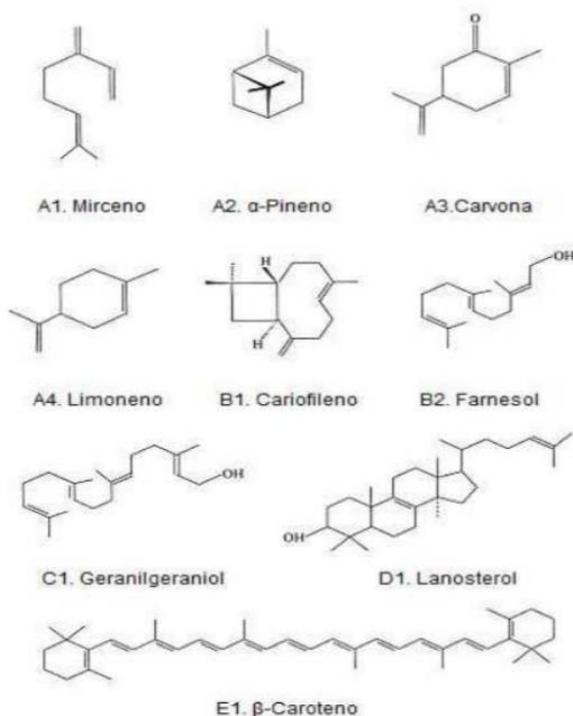
segundo Simões *et al.* (2017), ser compostos de 20 a 200 componentes. Esses componentes podem ser classificados conforme a quantidade presente no óleo. Os constituintes majoritários representam de 20 a 95 % do total de óleos essenciais, os constituintes secundários de 1 a 20 % e componentes-traço abaixo de 1 %.

Cada planta possui uma quantidade de óleo essencial em sua composição e é muito difícil antecipar essa variável. Sabe-se que plantas como os bálsamos possuem os maiores rendimentos conhecidos, podendo variar entre 30 e 70 %. Cravos e noz-moscada possuem de 15-17 % de óleos essenciais. Cardamomo possui rendimento de 8 %, patchouli de 3,5 %, funcho, anis e cominho de 1-9 %. Cascas de bergamota, laranja e limão de 0,2-0,5 % (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Os OE são compostos predominantemente dos hidrocarbonetos terpênicos, de forma molecular C_nH_{2n-4} , que se classificam de acordo com o número de carbonos presentes em sua molécula. Os terpenos mais comuns são os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos (PIRES, 2017; SILVA SANTOS *et al.*, 2006).

Os monoterpenos possuem dez carbonos em sua composição, como o mirceno, α -pineno, carvona e limoneno, podendo ser acíclicos, monocíclicos e bicíclicos e ainda, hidrocarbonetos insaturados, álcoois, aldeídos ou cetonas. Os sesquiterpenos possuem quinze carbonos, como o cariofileno e o farnesol e também podem ser acíclicos, monocíclicos e bicíclicos. Os diterpenos contam com vinte carbonos em sua composição, como o geranilgeraniol. Os triterpenos contém trinta carbonos, como o lanosterol. Os tetraterpenos possuem quarenta carbonos, como o β -caroteno (PIRES, 2017). A Figura 1 apresenta a estrutura dos terpenos citados acima.

Figura 1 - Principais terpenos encontrados em óleos essenciais



Fonte: Pires (2017).

Os óleos essenciais podem ainda ser constituídos de terpenóides, que são derivados funcionais dos terpenos, possuindo exclusivamente átomos de oxigênio na composição (SILVA SANTOS *et al.*, 2006).

Diversos fatores podem interferir nas características quantitativas e qualitativas de óleos essenciais, como o tipo de secagem e de processamento do material vegetal, o local de cultivo e o manejo após a colheita (ROSADO *et al.*, 2011). Fatores ambientais também afetam a composição do óleo e a quantidade de cada componente, assim como a idade da planta, as condições do solo, temperatura, exposição ao sol e aspectos hídricos (PIRES, 2017).

A composição do OE varia também ao longo da estrutura de uma mesma planta. Por exemplo, a casca de canela possui óleo essencial rico em aldeído cinâmico, as folhas da canela possuem óleo essencial rico em eugenol e as raízes da canela possuem óleo essencial rico em cânfora (RODRIGUES, 2002).

2.1.4.1 Monoterpenos

O canfeno é um monoterpene encontrado em várias plantas, especialmente no tomilho, em grandes quantidades. Possui propriedades expectorante, espasmolíticas e antimicrobianas, sendo usado no tratamento de tosse e problemas respiratórios e na indústria de licores (BASER; BUCHBAUER, 2010).

O mirceno, encontrado em cítricos, é utilizado na síntese de outros compostos para a indústria de perfumaria. Apesar de seu odor agradável, oxida com facilidade, por isso geralmente não é utilizado diretamente na perfumaria (PERINI *et al.*, 2017).

O citronelal, monoterpene cíclico, é o óleo essencial de maior quantidade presente na erva cidreira. É frequentemente utilizado na área farmacêutica como sedativo ou para o estômago (BASER; BUCHBAUER, 2010).

O linalol, composto presente em grande quantidade do OE de manjeriço, é utilizado como acaricida, bactericida e fungicida, além de ser utilizado para a síntese de vários compostos. Também possui propriedades sedativas e anticonvulsivas (SILVA *et al.*, 2003).

O limoneno, monoterpene monocíclico está presente em cascas de laranja e outras plantas. É muito utilizado em fragrâncias, principalmente em produtos domésticos (BASER; BUCHBAUER, 2010). Conforme SIMAS *et al.* (2015), o limoneno está presente em grande quantidade nos óleos essenciais de quinze cítricos analisados e é o principal constituinte de muitos deles, sendo que representa 43,52 % do óleo essencial do cítrico com sua menor presença e compõe 96,50 % do óleo essencial do cítrico com sua maior presença.

O timol é um composto fenólico encontrado nos óleos essenciais da planta alecrim de tabuleiro. Possui alta atividade antimicrobiana, analgésica e antioxidativa (OLIVEIRA, 2012).

O mentol, monoterpene majoritário de muitos óleos de *Mentha*, possui um odor e gosto característico e é utilizado em indústrias alimentícias com flavorizante e na indústria farmacêutica (BASER; BUCHBAUER, 2010). O óleo essencial de *Mentha* possui vários outros monoterpenos de interesse comercial, como mentona, carvona, linalol e acetato de linalila (MALHEIROS, 2014).

2.1.4.2 Sesquiterpenos

O cariofileno é o principal sesquiterpeno do lúpulo, matéria-prima da cerveja. É utilizado em aromas e fragrâncias. É o responsável pelo efeito sedativo da cerveja, além de possuir propriedades contra o câncer de mama (BASER; BUCHBAUER, 2010).

O farnesol é um sesquiterpeno alcoólico presente em vários óleos essenciais, como os de citronela, capim-limão, rosa e almíscar. É produzido também pelo corpo humano e possui propriedades anticancerígenas. É utilizado em perfumarias (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Patchoulol é o componente majoritário do óleo essencial de patchouli, também responsável pelo odor característico. É utilizado em indústrias de cosméticos e higiene oral como componente de produtos perfumados e possui propriedades antieméticas, antibacterianas e antifúngicas (BASER; BUCHBAUER, 2010).

2.1.5 O mercado de óleos essenciais

“Algumas substâncias presentes nos óleos essenciais possuem alto valor comercial, neste caso, essas substâncias podem ser isoladas do óleo ou mesmo sintetizadas em laboratório” (TRANCOSO, 2013).

Em 2009 o mercado de óleos essenciais teve seu valor estimado em US\$ 15 milhões/ano, apresentando crescimento de 11 % ao ano (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Já Baser e Buchbauer estimam, em 2010, que o valor anual do mercado de óleos essenciais seja de bilhões de dólares. A produção mundial está em torno de 45.000 toneladas, avaliadas em U\$ 700 milhões. Em 2002 o Brasil foi considerado responsável por pelo menos 13,5 % de toda a produção mundial (MORAIS, 2006).

Existem aproximadamente trezentos OE relevantes no mercado internacional e o Brasil é um grande representante de muitos destes, juntamente com a Índia, China e Indonésia. Os principais óleos essenciais importados ao Brasil do ano de 2005 ao ano de 2008 corresponderam a um total de quase nove toneladas, das quais 42 % foram de mentas, 29 % de cítricos, 15 % de óleos de folhas, 4 % de óleos de flores, 2 % de óleos de madeiras e 22 % de outros OE (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

O Brasil é considerado um dos maiores produtores de frutas cítricas do mundo, fator influenciado diretamente pelo clima do país, que é capaz de permitir uma citricultura tropical na maior parte do país e uma citricultura em temperaturas mais amenas ao sul do país (SIMAS *et al.*, 2015). Com a grande quantidade de cítricos produzidos no Brasil, ocorre uma grande produção de sucos de frutas cítricas, abrindo assim, portas para a produção de óleos essenciais, direcionando e frisando a importância do país no mercado mundial de OE. Em 2004 o Brasil foi responsável por cerca de 5 % de todas as importações realizadas pela União Europeia, com os óleos de laranja, limão, lima e outros cítricos como principais produtos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

O valor de diferentes óleos essenciais pode variar de forma muito grande. Por exemplo, o óleo essencial de laranja é em torno de US\$1,80/kg, enquanto o óleo essencial de íris chega a US\$120.000,00/kg (BASER; BUCHBAUER, 2010). O mercado de óleos essenciais demanda produtos limpos, com alta qualidade, capacidade de abastecimento, alta produtividade e preços competitivos (LEAL, 2008). Infelizmente, por alguns motivos como a baixa qualidade dos óleos e a falta de investimentos, o Brasil se depara com um quadro estagnado de crescimento de produção e comercialização dos OE em escala mundial (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Por possuir uma grande área territorial, o Brasil também conta com dificuldades de cultivo das plantas medicinais, pelas diferenças no clima e no solo de cada região. A falta de conhecimento do comportamento vegetal em determinadas áreas do país e a falta de conhecimento das etapas de plantio e cultivo, pode causar uma má qualidade dos extratos de óleos essenciais processados no Brasil (MORAIS, 2006).

O óleo essencial de *O basilicum* mais valorizado do mercado é derivado do manjeriço tipo Europeu, tendo como constituintes majoritários o linalol e o metil-chavicol. O preço do óleo essencial de manjeriço tipo doce é de US\$ 110,00/L no mercado internacional e o teor do óleo está entre 1,5 e 3 % (p/p). Estima-se que já em 1992 tenha sido produzido um equivalente a 2,8 milhões de dólares em óleo essencial de manjeriço, totalizando 43 toneladas do produto (MORAIS, 2006).

A importância de óleos essenciais e produtos naturais no Brasil é visível pelo Decreto nº 5813, de 22 de junho de 2006, que aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas. O Decreto visa a promoção e o fomento da pesquisa e o uso

consciente da biodiversidade brasileira aplicada a investimentos de tecnologias, projetos e inovações da área de produtos naturais, aumento da produção, desenvolvimento da cadeia produtiva e participação de vários ramos da indústria nacional (LEAL, 2008).

2.2 O GÊNERO *CITRUS*

Citrus é um gênero de plantas da família *Rutaceae* e suas frutas possuem muitos nutrientes e valor medicinal, além de possuírem fragrância e sabor refrescantes e vitamina C. As frutas de citros possuem diversas atividades biológicas, como efeito antialérgico, anticarcinogênico, antiviral e até capacidade de reduzir o risco de ataques cardíacos (LADANIYA, 2008).

A safra de citros é a principal safra cultivada no mundo inteiro e os principais citros são as laranjas, toranjas, tangerinas, limões e limas (KHAN, 2007). Entre 2004 e 2005, o Brasil já liderava a produção de citros com mais de 18,9 milhões de toneladas (LADANIYA, 2008).

2.2.1 *Citrus deliciosa* Tenore

A *Citrus deliciosa* Tenore, também conhecida como tangerina montenegrina e popularmente como bergamota, faz parte do gênero de plantas *Citrus*, da família *Rutaceae*. Conforme Figura 2, suas árvores possuem grande quantidade de folhas. Além disso, os frutos são de sabor agradável, possuem sementes e casca fina e levemente aderente ao fruto, são suculentos, doces e de cor laranja-amarelada (LADANIYA, 2008).

Do ponto de vista botânico, ainda existe um grupo do qual a tangerina montenegrina faz parte, o grupo mandarina, que inclui outras espécies de citros. Porém, ao referenciar óleos essenciais de mandarina, normalmente refere-se ao óleo da tangerina montenegrina (DUGO; MONDELLO, 2011).

Figura 2 – *Citrus deliciosa* Tenore

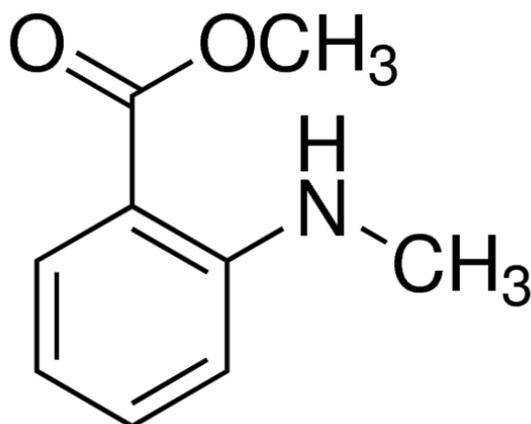
Fonte: MF Rural (2018).

2.2.1.1 Óleo essencial da folha de *Citrus deliciosa* Tenore

O óleo essencial das folhas, botões e pequenos galhos de diversos citros são conhecidos como *petitgrain* (DUGO; DI GIACOMO, 2002). O óleo essencial de *petitgrain* da *C. deliciosa* Ten é composto principalmente pelos monoterpenos limoneno, linalol e citral (BASER; BUCHBAUER, 2010). Além destes, existe a presença de α -pineno, β -pineno e pode haver a presença de p-cimeno, mirceno, β -ocimeno, sabineno, metil-N-metil antranilato, entre outros (DUGO; MONDELLO, 2011).

O metil-N-metil antranilato, também conhecido como dimetil antranilato, é um éster metílico de forma estrutural apresentada na Figura 3. É largamente utilizado como fragrância em cosméticos, shampoos, sabonetes e até em produtos de limpeza e por ser fototóxico não é recomendado apresentar concentrações maiores que 0,1 % em produtos de pele que não necessitam de enxague para evitar reações que sensibilizem a pele (SCCS, 2011). Além disso, o metil-N-metil antranilato possui cheiro característico e pungente (CORREA; QUIÑONES; ECHEVERRI, 2015).

Figura 3 - Metil-N-metil antranilato



Fonte: Merck KGaA (2020).

2.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

“A extração é uma operação unitária que tem por objetivo a separação de determinadas substâncias a partir de diversas matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos químicos, físicos ou mecânicos” (LEAL, 2008).

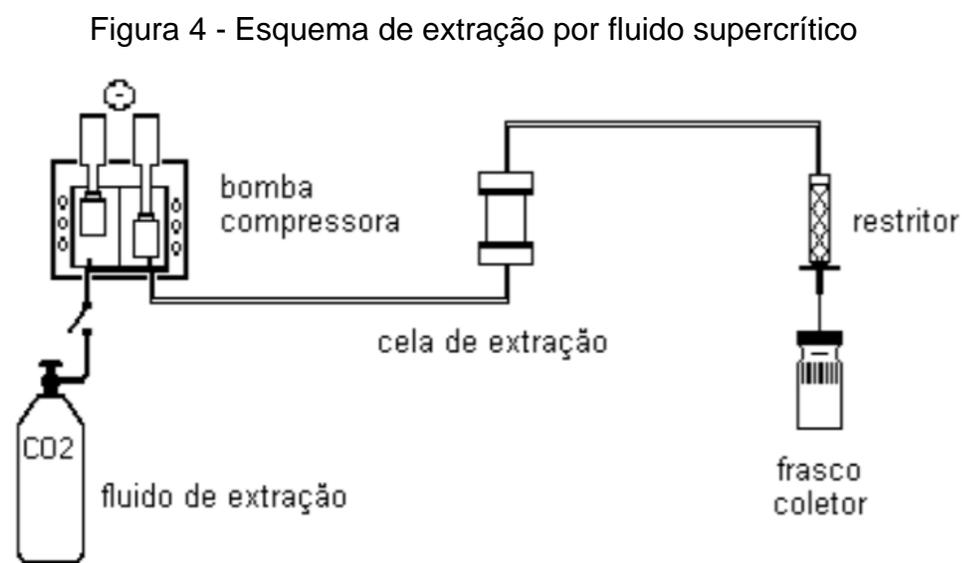
Os óleos essenciais de matérias-primas de origem vegetal podem ser extraídos pelos métodos de destilação por arraste a vapor, hidrodestilação, extração por fluido supercrítico, prensagem a frio, extração com solventes orgânicos, enfloração e outros (PIRES, 2017). Destes, os mais tradicionais são a destilação por arraste a vapor, a hidrodestilação e a extração por fluido supercrítico (SARTOR, 2009).

Um dos aspectos a serem considerados para acompanhar a demanda de óleos essenciais de matéria-prima vegetal é a qualidade dos OE presentes no mercado, o que desperta a necessidade de novos processos de extração. Para todos os métodos de extração, é importante avaliar o desempenho em relação ao rendimento, as propriedades e qualidade do óleo, o tempo de operação (produtividade) e custo de operação (LEAL, 2008).

2.3.1 Extração por fluido supercrítico

Um fluido supercrítico consiste em um fluido (gás) em temperatura acima da temperatura crítica, que é aquela onde ele não pode ser liquefeito por compressão isotérmica. Ao elevar um gás acima de sua temperatura e pressão críticas, considera-se que ele está no estado supercrítico, que é onde ocorre a extração. Ao utilizar um fluido no estado supercrítico, algumas de suas propriedades são percebidas, como alta densidade (semelhante à de um líquido), baixa viscosidade (semelhante a um gás), alta capacidade de dissolução de solutos (semelhante a um líquido) e difusividade intermediária entre gás e líquido (SARTOR, 2009).

Essa técnica de extração tem crescido muito nas últimas décadas, ela é mais rápida que as outras extrações de OE, utiliza CO₂ como solvente e seu uso é limpo e seguro. Tem como desvantagens sua alta sensibilidade próxima ao ponto crítico e, em escala industrial, seu elevado custo. Porém conta com uma gama de vantagens em escala laboratorial, como o baixo custo de operação, os baixos impactos ambientais por não ser poluente, inflamável ou tóxico e sua alta segurança (SARTOR, 2009). A Figura 4 representa o esquema de um sistema de extração por fluido supercrítico.



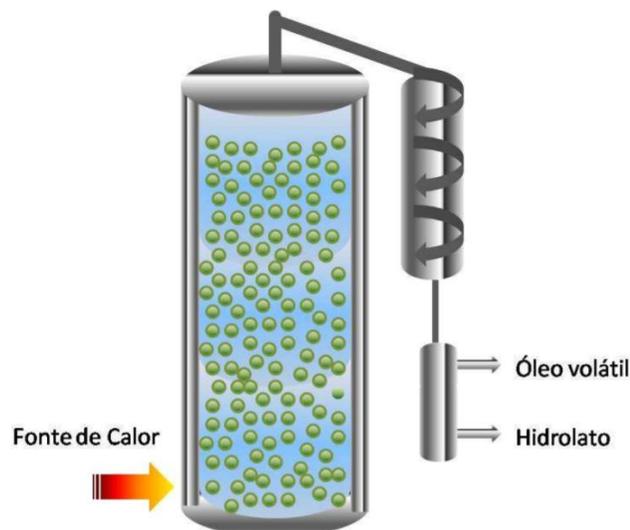
Fonte: Rodrigues (2002).

2.3.2 Extração por hidrodestilação

Um processo de extração de óleos essenciais que envolve água é chamado de hidrodestilação, podendo ser classificado em três processos: destilação com água, destilação com água e vapor e destilação direta com vapor d'água. Para a destilação com água, o material vegetal está flutuando ou imerso na água em ebulição utilizada para realizar a extração, sendo assim, estão em contato direto. Para a destilação com água e vapor, a matéria-prima está em um suporte perfurado, um pouco acima do nível de água, entrando em contato apenas com o vapor úmido da água em ebulição. Por fim, para a destilação direta com vapor d'água, não há água abaixo da matéria-prima, pois apenas o vapor é colocado no sistema de extração (KOKETSU; GONÇALVES, 1991).

O método consiste essencialmente em volatilizar e condensar uma mistura de água e material volátil vegetal. Existe uma grande termodegradação devido ao fato de operar em temperaturas altas (SARTOR, 2009). A Figura 5 ilustra um sistema de extração por hidrodestilação de contato direto com a água.

Figura 5 - Sistema de hidrodestilação onde a amostra está em contato direto com a água

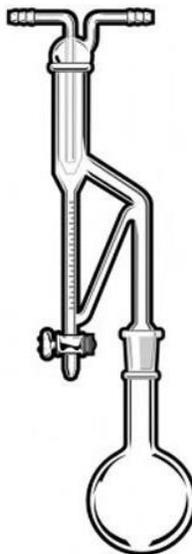


Fonte: Leal (2008).

Dentro dos métodos de hidrodestilação, o aparelho mais utilizado em laboratórios é o *clevenger*. Isso ocorre pela facilidade em manuseio e seu baixo custo (SARTOR,

2009). A Figura 6 representa o aparelho Clevenger já conectado à um balão de fundo redondo.

Figura 6 - Aparelho de extração do tipo *clevenger*



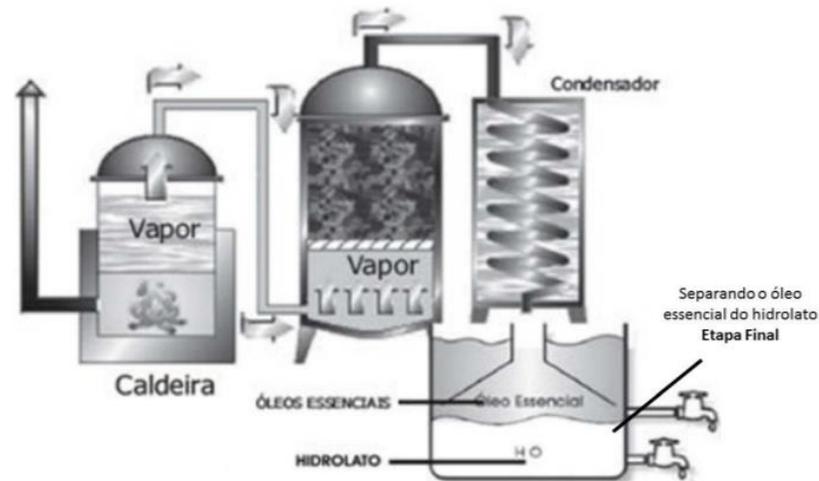
Fonte: Didática SP Artigos e Equipamentos para Laboratórios (2020).

2.3.3 Extração por destilação por arraste a vapor

A diferença entre a hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor consiste exclusivamente no contato entre o material vegetal e o solvente de extração. No arraste a vapor, o material vegetal entra em contato somente com o vapor do solvente e não com o solvente em si (SARTOR, 2009). Já na hidrodestilação, a matéria-prima entra em contato direto com a água, estando imersos ou flutuando sobre a mesma e os óleos essenciais, por possuírem tensão de vapor mais elevada, são extraídos do material vegetal (ORLANDA, 2011).

Em escala industrial é preferível a destilação por arraste a vapor, uma vez que é um processo mais simples, econômico e permite utilizar grandes quantidades de material vegetal por vez (SARTOR, 2009). A indústria utiliza amplamente o método de destilação por arraste a vapor justamente pelo fato de não haver contato entre a água e o material vegetal (ORLANDA, 2011). A Figura 7 ilustra um sistema de destilação por arraste a vapor.

Figura 7 - Sistema de destilação por arraste a vapor em escala piloto



Fonte: Pires (2017).

Utiliza um gerador de vapor externo ao sistema, que gera vapor d'água saturado ou superaquecido (LEAL, 2008). O vapor d'água gerado, passa por um vaso extrator que contém um leito fixo de material vegetal distribuído de forma que haja o maior contato possível entre a matéria-prima e o vapor. Os compostos voláteis são arrastados pelo vapor para o topo em direção ao condensador e em seguida passam para o vaso separador. O vaso separador realiza a separação das fases oleosa e aquosa do condensado (PIRES, 2017).

Cinco componentes fazem parte do sistema de extração por arraste a vapor: dorna, condensador, vaso separador, coletor e gerador de vapor. Eles são descritos de forma sucinta conforme Koketsu e Gonçalves (1991) abaixo:

1. Dorna: responsável pela separação do material vegetal e da fonte distribuição do vapor e responsável por descartar o condensado acumulado;
2. Condensador: responsável por condensar o material volátil e o vapor;
3. Vaso separador: responsável por separar a mistura oleosa e aquosa e deve ser escolhido conforme o peso do óleo em questão;
4. Coletor: utilizado para armazenar o óleo essencial já separado da água;
5. Gerador de vapor (ou caldeira): responsável por gerar o vapor saturado ou superaquecido que extrairá o óleo essencial e também deve ser escolhida

considerando o tipo de óleo que se está trabalhando, uma vez que cada óleo requer uma vazão diferente de vapor d'água.

2.3.3.1 Vácuo

Um dos problemas enfrentados ao realizar uma extração por destilação é a alta temperatura de ebulição do material. Se a matéria-prima possuir um ponto de ebulição muito alto, algumas substâncias presentes irão se degradar antes que a ebulição possa ser realizada. Nestes casos, para separar os compostos em questão de impurezas ou para purificá-los, é necessário diminuir a temperatura de ebulição do material para que o mesmo possa ser vaporizado sem alcançar temperaturas de degradação de moléculas de interesse (SARTOR, 2009). Assim, operações realizadas sob vácuo permitem a diminuição da temperatura de operação e, assim, separam os compostos que seriam destruídos ao operar em temperaturas e pressões normais (MEDEIROS, 2014). Para isso, pode ser acoplada uma bomba de vácuo no sistema de fracionamento, fazendo com que a pressão interna seja menor que a pressão atmosférica, assim, diminuindo a temperatura de extração do material vegetal.

2.4 FRACIONAMENTO DO ÓLEO

Os óleos essenciais possuem constituintes polares e apolares, sendo que os constituintes polares são os responsáveis pelas propriedades organolépticas dos óleos. Já os constituintes apolares, estão em maior quantidade e oxidam ao serem expostos à luz ou ar, além de serem responsáveis por atrapalhar a solubilidade do óleo. Uma vez oxidados, estes componentes (que incluem os terpenos) possuem odor desagradável, o que inviabiliza o uso do OE (FERNANDES, 2017).

Sendo assim, é realizada a desterpenação, que pode consistir em remover parcial ou totalmente os monoterpenos e/ou sesquiterpenos da mistura (FERNANDES, 2017). O processo de desterpenação, também conhecido como *folding*, mira concentrar os componentes de interesse retirando os monoterpenos e, quanto mais concentrado, maior

valor econômico ele possui uma vez que aumenta a estabilidade do óleo (PERINI *et al.*, 2017).

A desterpenação e o enriquecimento do óleo essencial extraído ocorre pelo fracionamento do vapor, isolando frações de constituintes específicos ou até mesmo de um único componente puro. Para realizar a separação dos componentes do vapor sem que ocorra decomposição dos constituintes pela temperatura, baixas pressões são aplicadas ao fracionamento, ou seja, com vácuo. Existem diferentes tipos de colunas de fracionamento, sendo que a mais utilizada é uma coluna de vidro ou aço inoxidável recheada de anéis Raschig (BASER; BUCHBAUER, 2010).

2.5 ANÁLISE DE EXTRATOS

Para realizar a análise química dos óleos essenciais podem ser utilizadas técnicas cromatográficas e espectroscópicas para realizar a separação e identificação dos constituintes. A partir das técnicas e dos resultados das análises, consultam-se bibliotecas com informações do espectro para identificar e quantificar as substâncias já conhecidas e presentes no sistema (ORLANDA, 2011).

As técnicas cromatográficas são: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia em coluna (CC), cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). E as técnicas espectroscópicas são: espectroscopia na região do ultravioleta (UV), do infravermelho (IV), de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN1H) e de carbono (RMN13C) e a espectrometria de massas (MS) (ORLANDA, 2011).

2.5.1 Cromatografia

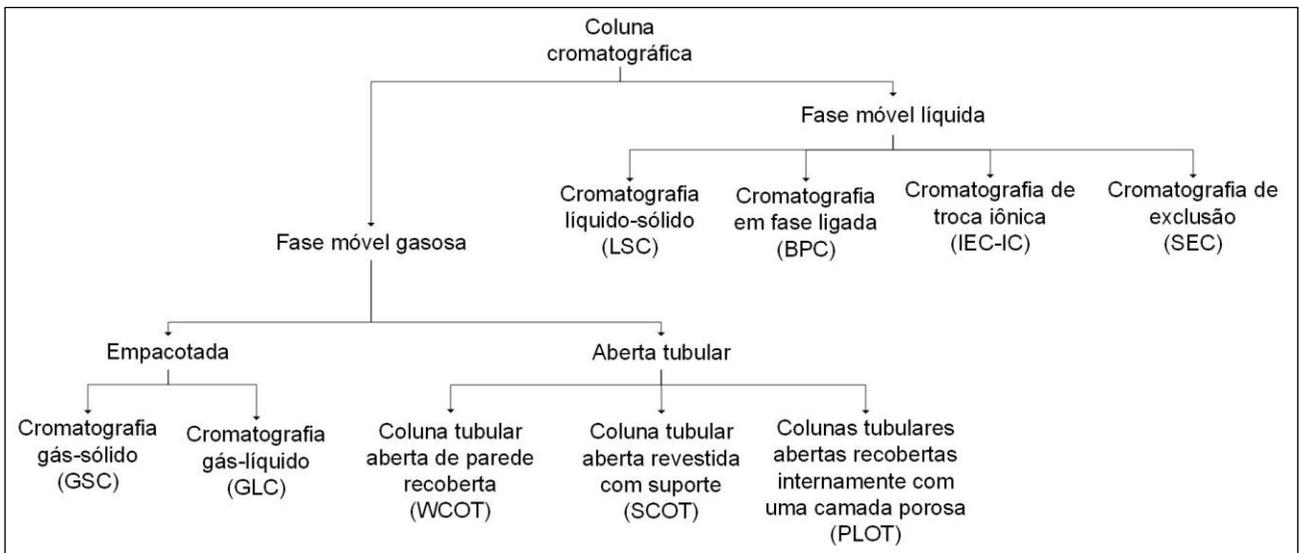
É uma técnica muito versátil de análises que consegue, de uma única vez, separar componentes de uma mistura, identificá-los e quantificá-los (SCOTT, 2003).

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra move-se através dela. Durante a passagem da fase móvel

sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

As amostras podem ser sólidas, líquidas ou gasosas e podem variar em complexidade e número de compostos e as análises podem ser realizadas em diversos tipos de aparelhos, desde equipamentos complexos e caros até os mais simples e baratos objetos (SCOTT, 2003). As diferentes modalidades de cromatografia podem ser classificadas por técnica, mecanismo de separação e tipos de fases (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997). A Figura 8 esquematiza os tipos mais comuns de cromatografia.

Figura 8 - Tipos de cromatografias



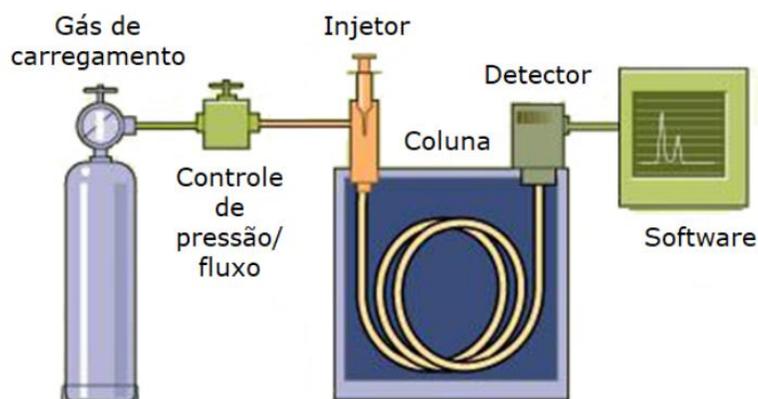
Fonte: Adaptado de McNair e Miller (2009).

2.5.1.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é utilizada para separar amostras de gases ou substâncias voláteis por meio da diferença de distribuição da amostra entre a fase estacionária e a fase móvel. Neste caso, a fase móvel é gasosa e a fase estacionária pode ser líquida ou sólida (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997). Por conter uma fase gasosa, é necessário operar em um recipiente selado e vedado, conhecida como coluna (MCNAIR; MILLER, 2009).

A operação consiste em injetar a amostra em uma coluna contendo a fase estacionária. Com o uso de temperaturas específicas, a amostra é vaporizada e retida até chegar ao fim da coluna. Cada amostra possui propriedades diferentes, assim como cada fase estacionária, o que faz com que o tempo de retenção de cada componente da amostra seja diferente. Quando os constituintes chegam ao fim da coluna, são recebidos por um detector, responsável por quantificá-los (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997). A Figura 9 representa um esquema de cromatografia gasosa e o Quadro 2 pontua, conforme McNair e Miller (2009), as vantagens e desvantagens do método.

Figura 9 - Esquema de um processo de cromatografia a gás



Fonte: DCtech Instrumentação (2020).

Quadro 2 - Vantagens e desvantagens da cromatografia gasosa

Vantagens	Desvantagens
Rápido, preciso, simples e econômico	Apenas para amostras gasosas ou voláteis
Eficiente, com alta resolução	Perigoso para amostra termodegradáveis
Sensível (detecta ppm e até ppb)	Inadequada para amostras grandes
Não destrutivo e requer amostras pequenas (μL)	Necessita de acoplamento de espectrômetro de massas para confirmação de identidade

Fonte: Adaptado de Collins, Braga e Bonato (1997).

2.5.1.1.1 Cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC)

Vários são os tipos de detectores utilizados em uma cromatografia gasosa, porém o detector por ionização de chama é o mais utilizado por possui uma alta sensibilidade para compostos orgânicos (MCNAIR; MILLER, 2009; BRAITHWAITE; SMITH, 1996).

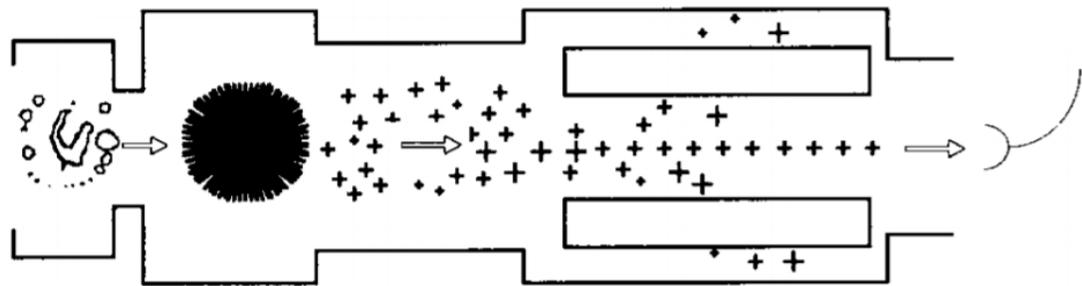
O gás de arraste chega ao detector e uma chama produzida pela combustão de ar e hidrogênio queima e ioniza algumas das moléculas presentes nesta corrente gasosa (impurezas presentes no gás de arraste, produtos originados das sangrias da coluna e septo). Quando moléculas da amostra presentes no gás de arraste chegam ao detector, elas são queimadas na chama, ocorrendo a formação de íons, que são coletados por um eletrodo. A quantidade de íons formados quando a amostra está presente no gás eluente é muito maior que a quantidade formada quando somente o gás de arraste está sendo queimado. A corrente gerada é convertida em voltagem, amplificada e captada pelo registrador (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

O sinal varia aumenta de forma proporcional a quantidade de átomos na molécula, e diminui em função da combustão envolvendo a captura de elétrons em alguns grupos eletronegativos. Além disso, a eficiência do detector depende de uma boa proporção entre os gases que alimentam a chama (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

2.5.1.1.2 Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EM)

A espectrometria de massas é uma técnica analítica que determina o peso molecular de compostos químicos pela separação de íons moleculares de acordo com a sua relação entre massa e carga. Os íons são gerados induzindo a perda ou o ganho de uma carga e, ao serem formados, podem ser separados e detectados. O espectrômetro é composto por uma fonte geradora de íons, um separador que analisa as massas baseado na relação de massa e carga e um detector de íons (SIUZDAK, 1996). A Figura 10 ilustra um espectrômetro de massas e seus três principais componentes.

Figura 10 - Esquema representativo de um espectrômetro de massas



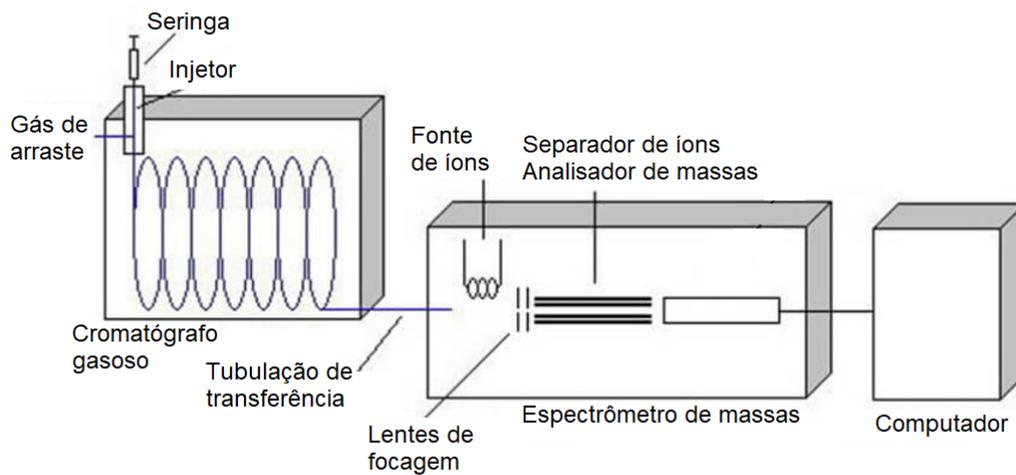
Fonte: Adaptado de Siuzdak (1996).

O analisador de massas, o detector de íons e alguns geradores de íons necessitam acoplar uma bomba no sistema, uma vez que operam em baixas pressões. O último item necessário é um computador, que registra o sinal detectado no sistema e identifica os componentes que fazem parte da amostra (EKMAN *et al.*, 2009).

O método que consiste em um sistema de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas é largamente usado para realizar análises de óleos essenciais. Esta combinação opera com alta sensibilidade, gerando uma boa análise qualitativa (OLIVEIRA, 2012). O sistema permite separar os componentes da amostra e fornece um espectro de massas para cada pico que por sua vez, mostra a massa molecular do respectivo componente e o padrão de fragmentação. A massa molecular informa a classe da substância e o padrão de fragmentação é usado para comparar eletronicamente com os espectros presentes na biblioteca do computador (RODRIGUES, 2002).

A interface é o dispositivo que transporta a amostra do cromatógrafo ao espectrômetro (KITSON; LARSEN; McEWEN, 1996). O vapor que vem do cromatógrafo passa pela interface e vai até a câmara de ionização do espectrômetro, sendo possível obter o espectro de massas de cada um dos componentes presentes na mistura (RODRIGUES, 2002). Os espectros podem ser apresentados em gráficos ou tabelas, sendo que a representação gráfica possui a vantagem de apresentar as sequências de fragmentação (ORLANDA, 2011). A Figura 11 representa um esquema da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

Figura 11 - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas



Fonte: Adaptado de Leckerman Law LLC (2020).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado para a realização do trabalho foi a folha da planta tangerina cv montenegrina (*Citrus deliciosa* Tenore) do pomar experimental da Universidade de Caxias do Sul em São Sebastião do Caí, município do Rio Grande do Sul.

3.1.2 Equipamentos para processamento da folha

Foi utilizado um secador com circulação forçada de ar na sala de secagem da Universidade de Caxias do Sul.

3.1.3 Equipamentos de extração

Foram utilizados três sistemas de extração sob arraste a vapor sob pressão atmosférica. Os equipamentos utilizados consistem em um balão de fundo redondo inserido em uma manta de aquecimento marca Quimis, modelo Q321A28, com potência de 690 W que aquece a água utilizada para a extração. Acoplado ao balão está uma câmara de vidro onde a amostra foi colocada e em seguida, um condensador e um *clevenger* para realizar a separação do óleo, conforme Figura 12.

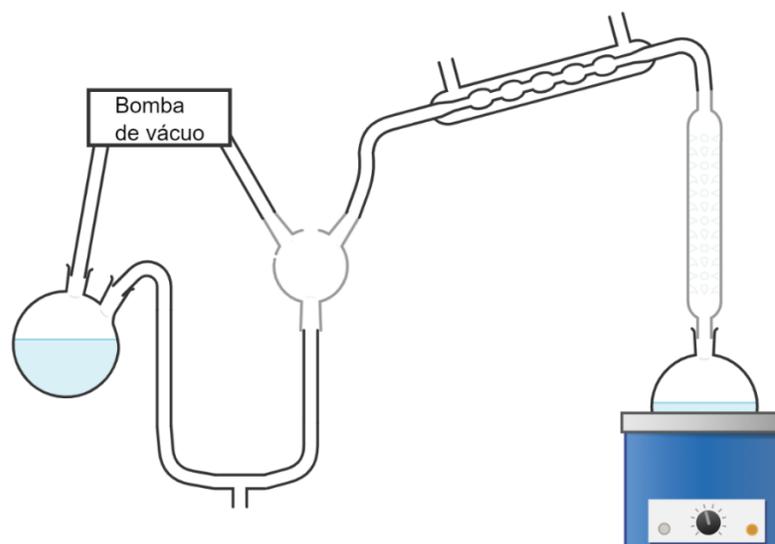
Figura 12 - Sistema de extração sob pressão atmosférica



Fonte: A Autora (2020).

Para o sistema de extração sob vácuo, foi utilizado um balão de fundo redondo aquecido por manta de aquecimento acoplado a uma câmara de vidro e em seguida a um condensador. O condensador, por sua vez, está ligado a um recipiente que está acoplado a bomba de vácuo marca Primatec, modelo 121, com vazão máxima de $2,2 \text{ m}^3/\text{h}$, capacidade de $37 \text{ L}/\text{min}$ e potência de $0,25 \text{ hp}$ (190 W) e a um tubo em U, responsável por realizar a separação do óleo e por se ligar a outro balão onde o condensado será armazenado. Este último balão também está acoplado a bomba de vácuo, garantindo assim, que o vácuo se mantenha em toda a extensão do sistema. A Figura 13 ilustra o projeto do sistema.

Figura 13 – Projeto do sistema de extração sob vácuo



Fonte: A Autora (2020).

3.1.4 Equipamentos de análise

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás com detector por ionização de chama no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos (LBIOP) da Universidade de Caxias do Sul

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Coleta do material vegetal

A coleta do material vegetal ocorreu no dia 11 de setembro no pomar experimental da Universidade de Caxias do Sul, localizado na cidade de São Sebastião do Caí. O dia era nublado e as folhas estavam completamente secas de chuvas. A coleta ocorreu das 9h30 às 11h e foram coletados galhos de plantas somente com frutos e sem flores para garantir uma amostragem padronizada. A Figura 14 ilustra o pomar experimental e os pés de *C. deliciosa* Ten. utilizados para a coleta do material.

Figura 14 – Pomar experimental e plantas de coleta de material



Fonte: A Autora (2020).

3.2.2 Processamento do material vegetal

Os galhos foram armazenados em sacos plásticos e transportados de carro até a cidade de Bento Gonçalves, onde, no mesmo dia, foi realizada manualmente a separação das folhas e dos galhos, conforme Figura 15. Os galhos foram descartados e as folhas foram espalhadas em local fechado, seco e arejado por três dias para conservação e gradual secagem das folhas antes de serem levadas até a universidade.

Figura 15 - Folhas separadas dos galhos



Fonte: A Autora (2020).

No dia 14 de setembro, as folhas foram levadas de carro até a universidade e espalhadas em câmara de secagem com soprador e circulação forçada de ar a uma temperatura de 40 °C por mais três dias, até as folhas estarem secas. A Figura 16 mostra as folhas na câmara de secagem. Após a secagem, elas foram armazenadas em um saco e homogeneizadas dentro do mesmo para aguardar as extrações.

Figura 16 - Folhas no secador



Fonte: A Autora (2020).

3.2.3 Determinação do teor total de óleo da planta

As folhas foram pesadas em balança analítica, onde foram separadas 3 séries de 50 gramas de folhas secas para realizar as extrações.

Foram realizadas em escala de bancada, extrações em triplicata a pressão atmosférica e tempo de 4 horas para exaurir completamente o óleo essencial do material vegetal e assim determinar o teor total de óleos essenciais da planta. As extrações foram realizadas com 50 gramas de folhas secas nas câmaras de vidro e foi utilizado sistema conforme com *clevenger* para separar os óleos, conforme Figura 12. O condensador foi acoplado de forma a configurar um sistema em paralelo para a temperatura do condensado ser a mesma em todas as extrações. Esta temperatura foi configurada para entrar no sistema em 14 °C e o sistema está representado na Figura 17.

Figura 17 - Extração sob pressão atmosférica em triplicata por 4 horas



Fonte: A Autora (2020).

3.2.4 Determinação da composição padrão de óleo da planta

Para determinação da composição do óleo essencial a ser utilizado como padrão comparativo para as extrações com vácuo, foram realizadas em triplicata e escala de bancada, extrações sob pressão atmosférica com 50 gramas de folhas, porém, durante um tempo total de 1 hora. Também foi utilizado *clevenger* para separar o óleo e a configuração do sistema do condensador também foi em paralelo com a água do condensador entrando no sistema em 14 °C. O ensaio está ilustrado na Figura 18.

Figura 18 - Extração sob pressão atmosférica em triplicata por 1 hora



Fonte: A Autora (2020).

3.2.5 Determinação do volume de condensado para projeto do sistema de extração sob vácuo

Em um sistema completamente fechado composto por manta de aquecimento, balão de fundo redondo, câmara para simular uma extração, condensador e balão para coleta do condensado, foi realizado um ensaio em para determinar o volume de condensado que uma extração sob vácuo gera. Realizado sob uma pressão interna de -650 mmHg e sem material vegetal para extração, o sistema está ilustrado na Figura 19.

Figura 19 - Sistema fechado para determinação do volume de condensado



Fonte: A Autora (2020).

3.2.6 Determinação da influência da pressão no rendimento e composição do óleo

No sistema de extração sob vácuo, foram executadas extrações com a mesma quantidade de material vegetal (50 gramas de folhas já processadas) e durante o mesmo tempo de extração (uma hora). Cada uma das extrações foi feita a pressão constante, porém a pressões diferentes, conforme Tabela 1.

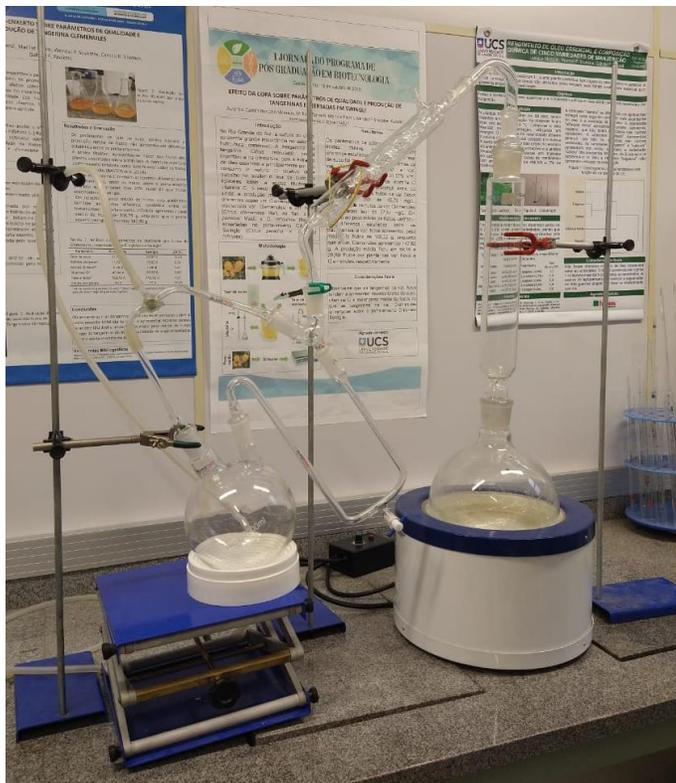
Tabela 1 - Ensaios e suas respectivas pressões de operação

Ensaio	Vácuo (mmHg)	Pressão interna (mmHg)
1	-150	610
2	-300	460
3	-450	310

Fonte: A Autora (2020).

Em cada pressão foram realizadas extrações em triplicata, para garantir uma amostragem correta do rendimento e da composição do óleo essencial em cada pressão. O sistema de extração está elucidado na Figura 20.

Figura 20 - Sistema de extração sob vácuo



Fonte: A Autora (2020).

3.2.7 Verificação da eficiência do aparato de extração

Ainda, para verificação da eficiência do aparato de extração sob vácuo, foram realizadas extrações em triplicata, em sistema fechado, porém sem a utilização da bomba de vácuo, com 50 gramas de material vegetal, sob pressão atmosférica e pelo tempo de uma hora.

3.2.8 Análise dos extratos

As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso Hewlett Packard 6890 Series equipado com um processador de dados HP-Chemstation, utilizando uma coluna HP-5 (de 30 m de comprimento com diâmetro interno de 320 μm) com 0,50 μm de espessura de filme (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). A programação de temperatura foi de 40 °C por 8 min, aumentando para 180 °C a 3 °C $\cdot\text{min}^{-1}$, posteriormente aumentando para 230 °C a 20 °C $\cdot\text{min}^{-1}$, mantendo a 230 °C por 20 min. A temperatura do injetor foi de 250 °C, *split ratio* de 1:50, temperatura do detector de 250 °C, hidrogênio como gás de arraste a 34 kPa e o volume injetado de amostra foi de 1 μL , diluído em hexano em proporção de 1:10.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para o projeto e dimensionamento do aparato de extração sob vácuo, inicialmente foi realizado um teste, conforme Figura 18, para obter o volume de condensado em um sistema fechado e com vácuo. Em um período de 90 minutos, com vácuo de -650 mmHg, foi coletado um volume de 630 mL de água condensada, assim, foi elaborado, conforme Figura 18, o sistema de extração englobando um balão de 2 L de volume para ser utilizado nos ensaios com material vegetal, garantindo assim que ao alterar a pressão nos ensaios e ao adicionar o material vegetal, o volume total do balão seja suficiente para o volume do condensado gerado na extração.

Então, foi elaborado um novo sistema de extração, permitindo o acoplamento de uma bomba de vácuo, de forma a manter a pressão negativa em todo o sistema. O sistema de extração à vapor, é constituído por um balão de fundo redondo de volume de 5 litros, que está colocado em uma manta de aquecimento. Acoplado ao balão está a câmara onde o material vegetal é inserido e então, acoplado à câmara está um condensador.

Uma vez que o óleo possui polaridade diferente da água e densidade menor que a da água, o sistema forma duas fases líquidas, ficando o óleo na camada superior. Sendo assim, logo abaixo da saída do condensador está um pequeno balão onde o óleo pinga e escorre para um tubo em U que, por possuir vasos comunicantes, mantém o nível da água sempre o mesmo e, ao receber o condensado, expelle o excesso de água dentro de um balão coletor. Tanto o balão por onde passa o óleo como o balão que armazena o condensado estão conectados à bomba de vácuo, garantindo assim, pressão uniforme em todo o sistema. A Figura 19 mostra o sistema de extração sob vácuo.

Tendo o sistema definido, seu dimensionamento foi feito pensando em obter uma graduação no tubo em U, mantendo uma escala de volume de 50 μ L a cada 1 mm de altura, similar a graduação do *clevenger* e, no total, 5 mL de volume em cada perna do tubo em U, suficiente para armazenar o óleo e uma quantidade de água que mantém o nível pelos vasos comunicantes. Sendo assim, o diâmetro interno ideal do tubo em U foi calculado conforme Equação (1).

$$V = \pi r^2 h \quad (1)$$

$$50 \mu L = \pi \times r^2 \times 1 \text{ mm}$$

$$r = 0,004 \text{ m}$$

$$d = 8 \text{ mm}$$

Para garantir que o vácuo não quebre e nem trinque o vidro, foi necessário utilizar um tubo com uma espessura de parede mais grossa, sendo assim, utilizando um tubo catalogado com diâmetro externo de 12 mm e espessura de parede de 2,2 mm, resultando em um diâmetro interno de 7,6 mm (SCHOTT, 2020). Para o diâmetro real de 7,6 mm, foi então calculada a altura necessária do tubo, utilizando ainda a Equação (1), para comportar um volume de 5 mL com um raio de 0,0038 m, equivalente ao diâmetro interno de 0,0076 m. Com o projeto dimensionado, foi fabricado o aparato de extração sob vácuo.

$$50 \text{ mL} = \pi \times 0,0038^2 \times h$$

$$h = 11 \text{ cm}$$

Para os ensaios sem vácuo, naturalmente, a pressão foi a pressão atmosférica, 760 mmHg. Já para os ensaios com vácuo de -150 mmHg, a pressão interna do sistema foi de 610 mmHg, para o vácuo de -300 mmHg a pressão interna foi de 460 mmHg e para o vácuo de -450 mmHg a pressão interna foi de 310 mmHg. Os valores de rendimento de extração estão evidenciados na Tabela 2 e na Figura 21. Observa-se que apenas dois ensaios de 1h realizados em *clevenger* estão apresentados na Tabela 2, o que é consequência do descarte de um ensaio em função de seus resultados destoantes.

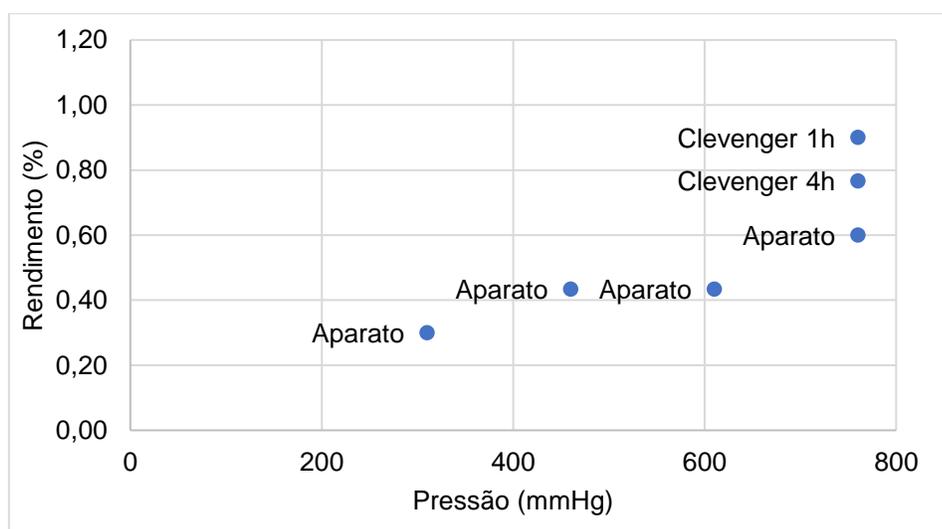
Tabela 2 - Pressão, volume extraído e rendimento de cada extração

Ensaio	Pressão (mmHg)	Volume (mL)	Rendimento (% m/v)	Volume médio (mL)	Rendimento médio (% m/v)
Aparato 1h	760	0,3	0,6	0,30	0,60
		0,3	0,60		
		0,3	0,60		

Ensaio	Pressão (mmHg)	Volume (mL)	Rendimento (% m/v)	Volume médio (mL)	Rendimento médio (% m/v)
	610	0,2	0,4	0,22	0,43
		0,25	0,5		
		0,2	0,4		
	460	0,2	0,4	0,22	0,43
		0,2	0,4		
		0,25	0,5		
	310	0,15	0,3	0,15	0,3
		0,1	0,2		
		0,2	0,4		
Clevenger 1h	760	0,45	0,9	0,48	0,95
		0,5	1		
Clevenger 4h	760	0,4	0,8	0,38	0,77
		0,35	0,7		
		0,4	0,8		

Fonte: A Autora (2020).

Figura 21 - Rendimento de extração por pressão de operação nos dois sistemas

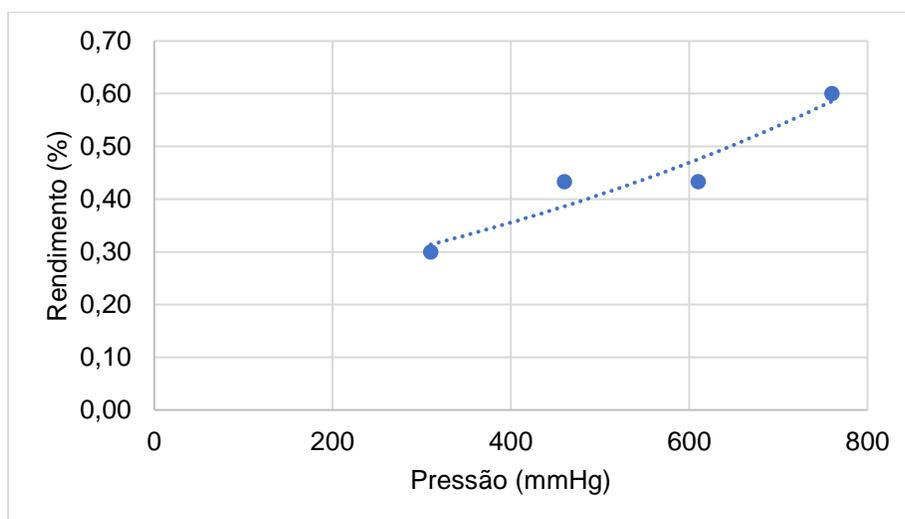


Fonte: A Autora (2020).

Observa-se que conforme a pressão do sistema diminui, ou seja, quanto mais vácuo é aplicado ao sistema, menor é o rendimento de extração e que, mesmo em pressão atmosférica, o aparato projetado para operar com vácuo realiza ensaios com rendimento menor que aqueles realizados no sistema de arraste a vapor clássico utilizando separador de óleos *clevenger*.

A curva que relaciona a pressão e o rendimento de extração para o aparato que opera com vácuo está ilustrada na Figura 22.

Figura 22 - Curva de pressão de operação e rendimento de extração para o aparato



Fonte: A Autora (2020).

Percebe-se que, ao aplicar vácuo de -450 mmHg, em pressão interna de 310 mmHg, o rendimento de óleo no aparato de cai pela metade em relação ao rendimento em pressão atmosférica.

A extração feita em *clevenger* pelo período de 4 h foi realizada para determinar o teor total de óleo essencial da planta, porém, foi observado que o rendimento de óleo deste ensaio foi menor do que o rendimento do ensaio de 1 h. O rendimento mais baixo da extração mais longa pode ser efeito da característica que o óleo apresentou de se separar dentro do *clevenger*, conforme Figuras 22 e 23. Muitas vezes uma parcela de óleo se desprende do resto, deslocando-se para um local sem graduação e impossível

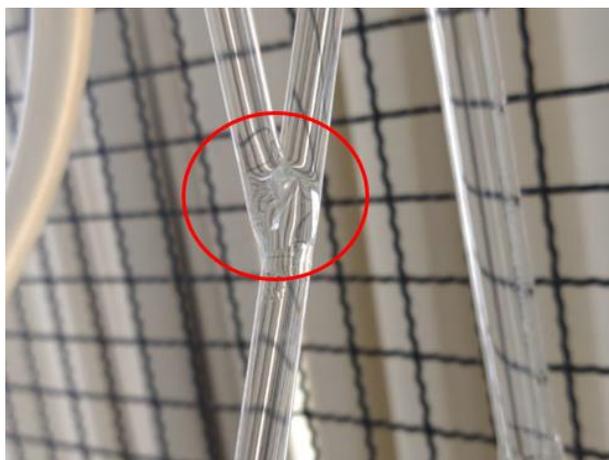
de quantificar, conforme Figuras 23 e 24 ou até impossível de se coletar, conforme Figura 24.

Figura 23 - Óleo dividido no *clevenger*



Fonte: A Autora (2020).

Figura 24 - Óleo separado no *clevenger*



Fonte: A Autora (2020).

Em função disso, esses ensaios tiveram seus resultados descartados e os ensaios realizados com a duração de apenas uma hora, foram utilizados como padrão de teor total de OE.

Os cromatogramas gerados com o detector por ionização de chama fornecem o índice de retenção de cada componente. Com isso, foi realizada uma comparação com os valores encontrados na literatura para identificação dos compostos quantificados nos cromatogramas. O Quadro 3 mostra os componentes presentes no OE extraído da planta nos ensaios realizados na pressão atmosférica em sistema tradicional com separador de óleos *clevenger*, ao mesmo tempo que fornece índice de retenção encontrado no cromatógrafo e o encontrado em Adams (2017). Neste ensaio, uma das triplicatas apresentou resultados destoantes para quase todos os componentes, sendo assim, ela foi descartada e apenas duas replicatas foram consideradas.

Quadro 3 - Componentes presentes na extração tradicional com *clevenger*

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)		Média (% m/m)
			1	2	
843,2	850	(Z)-3-hexenol	-	0,10	0,05
927,0	924	α -tujeno	0,12	0,13	0,125
934,8	932	α -pineno	0,47	0,51	0,49
979,1	979	β -pineno	0,61	0,67	0,64
990,7	988	Mirceno	-	0,07	0,035
1025,5	1025	Limoneno	1,00	1,08	1,04
1029,6	1032	(Z)- β -ocimeno	0,83	0,91	0,87
1072,1	1065	Linalol	7,82	7,43	7,625
1090,7	1089	p-cimeno	-	0,11	0,055
1100,8	1100	Nonanal	-	0,10	0,05
1178,5	1179	p-cimen-8-ol	0,19	0,15	0,17
1292,3	1289	Timol	0,23	0,25	0,24
1302,1	1300	Acetato de terpinila	0,27	0,22	0,245
1405,7	1405	Metil-N-metil antranilato	87,12	85,96	86,54
1499,5	1500	Biciclogermacreno	0,19	0,18	0,185
-	-	Não identificado	0,86	2,13	1,495

Fonte: A Autora (2020).

Observa-se que, conforme Dugo e Mondello (2011) e Silvestre *et al.* (2020), o óleo possui como único componente majoritário metil-N-metil antranilato. Ainda, os componentes secundários são os monoterpenos linalol e limoneno e nos componentes-traço estão monoterpenos α -tujeno, α -pineno, β -pineno, mirceno, (Z)- β -ocimeno, p-cimeno, p-cimen-8-ol, timol e acetato de terpinila, o sesquiterpeno bicilogermacreno, o aldeído alifático nonanal e o álcool alifático (Z)-3-hexenol.

O Quadro 4 apresenta os componentes presentes no OE extraído sob pressão atmosférica no processo de extração a vapor utilizando o equipamento projetado. Além disso, o Quadro 4 mostra a quantidade de cada componente, o índice de retenção detectado por ionização de chama e o índice encontrado em Adams (2017).

Quadro 4 - Componentes presentes no processo de extração a pressão atmosférica

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)			Média (% m/m)
			1	2	3	
926,9	924	α -tujeno	0,07	0,06	-	0,04
934,7	932	α -pineno	0,33	0,29	0,3	0,31
979	979	β -pineno	0,45	0,4	0,38	0,41
1025,6	1025	Limoneno	0,82	0,79	0,82	0,81
1029,6	1032	(Z)- β -ocimeno	0,6	0,58	0,58	0,59
1073,1	1065	Linalol	6,29	6,17	6,13	6,20
1178,7	1179	p-cimen-8-ol	-	0,06	-	0,02
1192,1	1186	α -terpineol	-	0,04	-	0,01
1405,4	1405	Metil-N-metil antranilato	68,64	66,27	70,19	68,37
1436,8	1440	Cis- β -farneseno	19,98	21,67	18,27	19,97
1462,4	1454	Trans- β -farneseno	0,38	0,42	0,44	0,41
1500,7	1500	Bicilogermacreno	0,23	0,25	0,27	0,25
1563	1561	Cis-nerolidol	0,09	0,12	0,11	0,11
-	-	Não identificado	2,13	2,88	2,51	2,51

Fonte: A Autora (2020).

Observa-se uma grande diferença na composição do óleo extraído no *clevenger* e no óleo extraído pelo processo de extração a vapor no aparato. O componente metil-N-metil antranilato também foi o único componente majoritário, porém em uma

concentração 18,17 % menor. O sesquiterpeno cis- β -farneseno, que não foi extraído no *clevenger* foi extraído em grande quantidade, sendo um componente secundário, juntamente com o linalol. O monoterpeneo α -terpineol e os sesquiterpenos, trans- β -farneseno e cis-nerolidol que com *clevenger* não foram extraídos, neste ensaio foram extraídos em pequenas quantidades fazendo parte dos componentes-traço juntamente com α -tujeno, α -pineno, β -pineno, limoneno, (Z)- β -ocimeno, p-cimen-8-ol e biciclogermacreno. Os monoterpeneos mirceno, p-cimeno, timol e acetato de terpinila juntamente com (Z)-3-hexenol e nonanal não foram extraídos.

Para o processo de extração a vapor sob o efeito de -150 mmHg de vácuo, com pressão interna de 610 mmHg, o Quadro 5 apresenta os componentes presentes juntamente com a quantidade de cada um dos componentes, em base mássica, e o índice de retenção detectado pelo cromatógrafo e o encontrado em Adams (2017).

Quadro 5 - Componentes presentes na extração de 610 mmHg

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)			Média (% m/m)
			1	2	3	
934,4	932	α -pineno	0,12	0,15	0,19	0,153
978,6	979	β -pineno	0,23	0,25	0,29	0,257
1025,2	1025	Limoneno	0,58	0,51	0,69	0,593
1029,2	1032	(Z)- β -ocimeno	0,38	0,38	0,4	0,387
1072,9	1065	Linalol	7,45	6,15	5,22	6,273
1292,2	1289	Timol	0,17	-	-	0,057
1302,1	1300	Acetato de terpinila	0,19	-	-	0,063
1406,7	1405	Metil-N-metil antranilato	88,32	89,83	89,87	89,340
1461,4	1454	Trans- β -farneseno	0,31	0,42	0,3	0,343
1500,4	1500	Biciclogermacreno	0,23	0,32	0,2	0,250
1562,6	1561	Cis-nerolidol	0,10	0,11	-	0,070
-	-	Não identificado	1,92	1,89	2,85	2,220

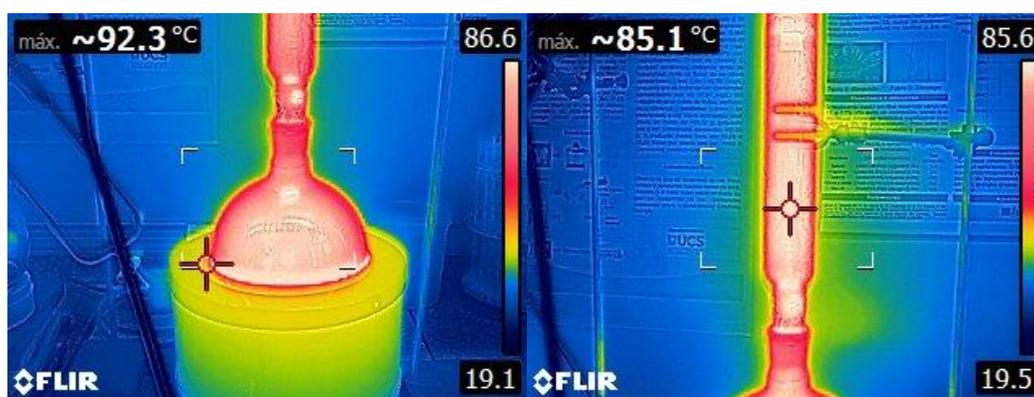
Fonte: A Autora (2020).

Neste ensaio, ao aplicar -150 mmHg de vácuo, o metil-N-metil antranilato continuou sendo o único componente majoritário do OE, porém sua concentração

aumentou de 68,37 % para 89,34 %. O linalol foi o único componente secundário, com uma concentração muito semelhante, aumentando de 6,20 % para 6,273 %. Mantiveram-se presentes como componentes-traço o α -pineno, β -pineno, limoneno e (Z)- β -ocimeno em menores concentrações e biciclogermacreno na mesma concentração. Ainda, foram extraídos traços dos componentes timol e acetato de terpinila que em pressão atmosférica não haviam sido extraídos, apenas em *clevenger*. Além disso, não foi possível extrair os componentes α -tujeno, p-cimen-8-ol, α -terpineol e cis- β -farneseno como em pressão atmosférica.

Para a leitura de temperatura do sistema, foi utilizada uma câmera de infravermelho MSX FLIR E6, que mediu a temperatura de 92,3 °C para a superfície externa do balão contendo a água de extração e 85,1 °C para a superfície da câmara contendo o material vegetal. A Figura 25 ilustra a imagem térmica do sistema.

Figura 25 – Imagens térmicas do sistema de extração a 610 mmHg



Fonte: A Autora (2020).

O Quadro 6 apresenta os componentes encontrados para a extração com pressão de 460 mmHg, com vácuo de -300 mmHg.

Quadro 6 - Componentes presentes na extração de 460 mmHg

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)			Média (% m/m)
			1	2	3	
1025,1	1025	Limoneno	-	0,27	-	0,09
1029,1	1032	(Z)- β -ocimeno	-	0,16	-	0,05

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)			Média (% m/m)
			1	2	3	
1073,3	1065	Linalol	0,22	0,5	-	0,24
1404,8	1405	Metil-N-metil antranilato	96,69	96,61	94,39	95,90
1458,7	1454	Trans- β -farneseno	0,31	0,3	-	0,20
1498,7	1498	α -selineno	0,22	0,2	-	0,14
-	-	Não identificado	2,56	1,96	5,61	3,38

Fonte: A Autora (2020).

Nestas extrações a pressão de 460 mmHg, o metil-N-metil antranilato foi o componente majoritário, com aumento de 89,34 % para 95,90 % em sua concentração e não houveram componentes secundários. O linalol foi extraído em uma concentração 96,17 % menor que aquela apresentada em 610 mmHg, sendo apenas um componente-traço com concentração de apenas 0,24 %. O limoneno, (Z)- β -ocimeno e trans- β -farneseno continuaram sendo extraídos, embora em concentrações menores, e o sesquiterpeno α -selineno que não havia sido extraído nos ensaios anteriores foi extraído com concentração de 0,14 %. Ainda, não foi possível extrair os componentes α -pineno, β -pineno, timol, acetato de terpinila, biciclogermacreno e cis-nerolidol como na pressão de 610 mmHg.

Para este ensaio, a temperatura da superfície do balão contendo a água utilizada para a extração foi de 76,6 °C e a temperatura da câmara com a amostra foi de 75,2 °C. A Figura 26 mostra a imagem térmica do sistema de extração.

Figura 26 – Imagens térmicas do sistema de extração a 460 mmHg



Fonte: A Autora (2020).

O Quadro 7 apresenta os componentes presentes na extração realizada a pressão de 310 mmHg, com vácuo de -450 mmHg, juntamente com a quantidade de cada um dos componentes, em base mássica, e o índice de retenção detectado pelo cromatógrafo e o encontrado em literatura.

Quadro 7 - Componentes presentes na extração de 310 mmHg

FID	Lit	Composto	Replicata (% m/m)			Média (% m/m)
			1	2	3	
1072,3	1065	Linalol	0,37	-	-	0,12
1403,1	1405	Metil-N-metil antranilato	98,5	97,51	96,7	97,57
1425,7	1432	Trans- α -bergamoteno	-	-	2,43	0,81
1458,1	1454	Trans- β -farneseno	0,25	-	-	0,08
-	-	Não identificado	0,89	2,49	0,87	1,42

Fonte: A Autora (2020).

Nos ensaios a pressão de 310 mmHg, com -450 mmHg de vácuo, o metil-N-metil antranilato continuou sendo o componente majoritário e apresentou uma concentração 1,74 % maior que nas extrações a 460 mmHg. Não houveram componentes secundários. Os componentes-traço linalol e trans- β -farneseno foram extraídos em menor quantidade, e o sesquiterpeno trans- α -bergamoteno que não havia sido extraído em nenhuma outra

pressão, foi extraído em baixa quantidade. Ainda, os componentes limoneno, (Z)- β -ocimeno e α -selineno que haviam sido extraídos em 460 mmHg, não foram possíveis de extrair.

Para este ensaio, a temperatura medida por câmera de infravermelho da superfície do balão contendo a água de extração foi de 67,3 °C e a temperatura da câmara contendo o material vegetal foi de 64,8 °C. A Figura 27 mostra a imagem térmica do sistema de extração.

Figura 27 – Imagens térmicas do sistema de extração a 310 mmHg



Fonte: A Autora (2020).

Como a câmera de infravermelho mede apenas a temperatura na superfície externa do sistema, foi utilizada a Equação (2), conhecida como Equação de Antoine, para calcular a temperatura de vaporização da água em cada um dos ensaios.

$$P = e^{\left(A - \frac{B}{T+C}\right)} \quad (2)$$

Considera-se que para a água pura A equivale a 11,68, B equivale a 3816 e C equivale a -46,13 (DONCA, 2013). A Tabela 3 apresenta o valor de temperatura de ebulição da água calculado a partir da pressão de cada ensaio.

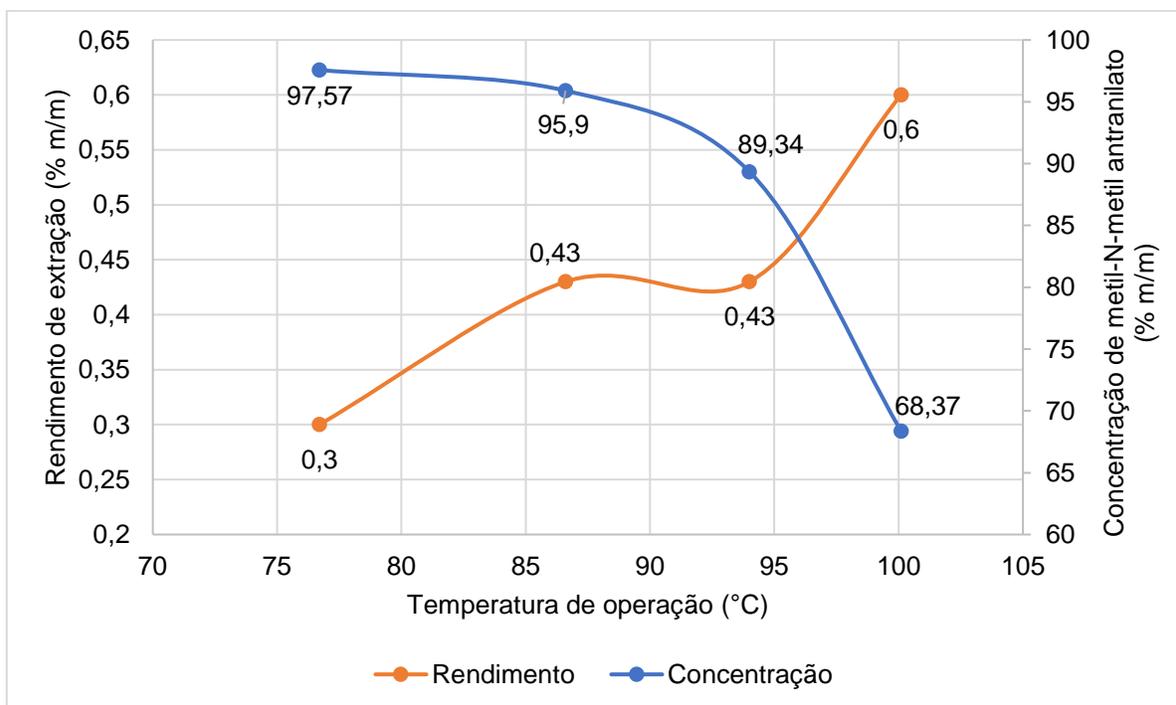
Tabela 3 - Temperatura calculada pela Equação de Antoine para cada extração

Pressão (mmHg)	Temperatura (°C)
760	100,1
610	94,0
460	86,6
310	76,7

Fonte: A Autora (2020).

A partir da Tabela 3 foi possível plotar o gráfico representado na Figura 28, onde é relacionada a temperatura de extração, o rendimento e a concentração do componente majoritário metil-N-metil antranilato no processo de extração a vapor.

Figura 28 - Relação entre rendimento de extração, temperatura de operação e concentração de metil-N-metil antranilato



Fonte: A Autora (2020).

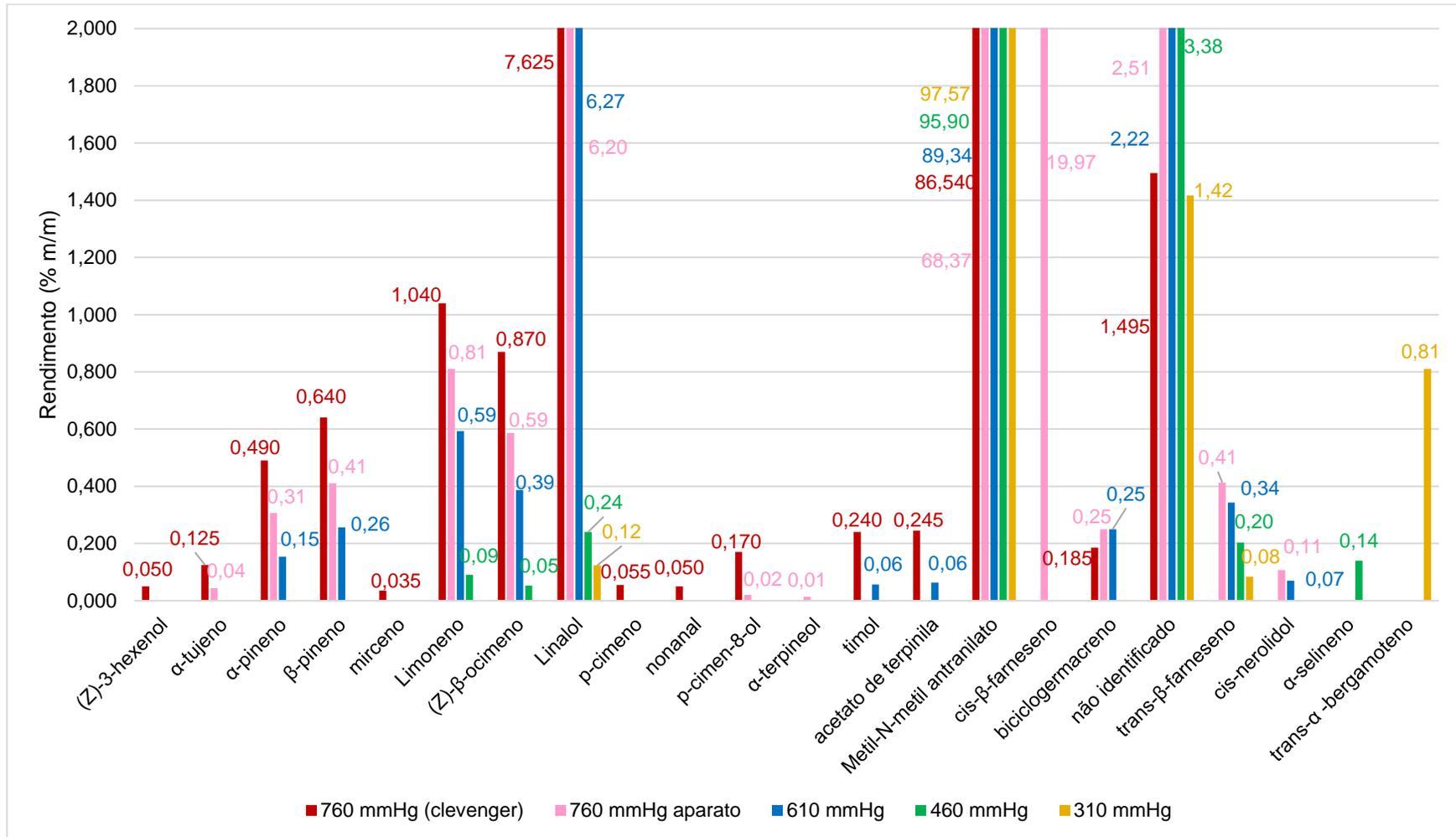
Com base nos Quadros 3 a 7, foi plotado o gráfico representado na Figura 29, onde é possível comparar a quantidade de cada um dos componentes do OE em cada

pressão do processo de extração a vapor e do *clevenger*. Observa-se que, no sistema de extração a vapor, os componentes timol, acetato de terpinila, α -selineno e trans- α -bergamoteno foram detectados somente com o efeito de vácuo. Uma possível causa, que merece ser investigada, é que estes componentes sofrem degradação térmica quando a extração ocorre a temperaturas mais altas.

Com exceção do metil-N-metil antranilato, que aumentou de concentração com o aumento do vácuo, e do trans- α -bergamoteno, que foi detectado somente na pressão mais baixa, os outros componentes tiveram suas concentrações reduzidas com o aumento do vácuo e diminuição da temperatura, o que pode significar que a temperatura elevada é fator necessário para a extração destes componentes.

Já os componentes que foram detectados somente em altas temperaturas, ou seja, sem vácuo, podem ser resultantes da degradação térmica de outras moléculas que, ao serem submetidas a temperaturas menores, não se degradam.

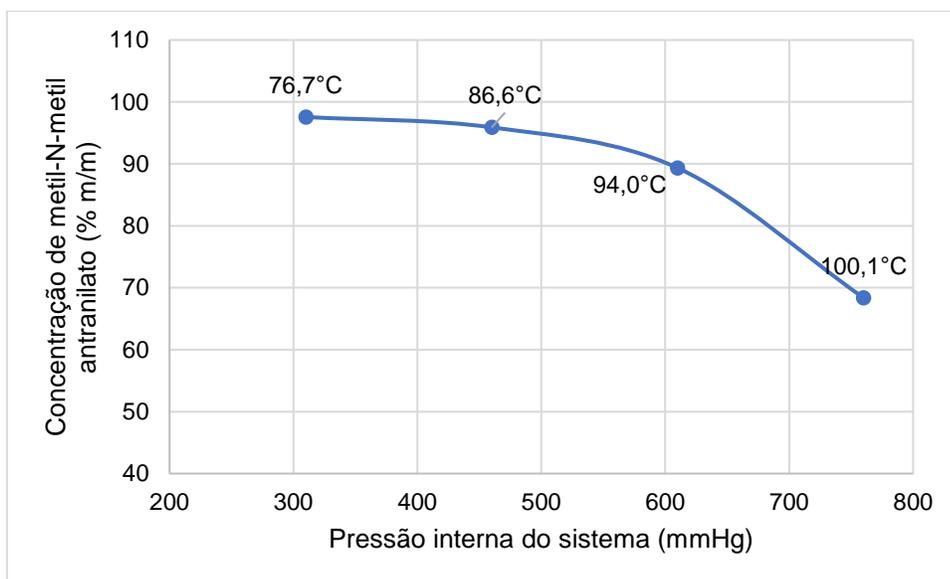
Figura 29 - Gráfico da quantidade de cada componente em cada pressão



Fonte: A Autora (2020).

Observa-se na Figura 30 o comportamento do componente majoritário metil-N-metil antranilato com relação a sua concentração ao longo das diferenças de pressão do processo de extração a vapor.

Figura 30 - Gráfico da pressão de operação pela concentração de metil-N-metil antranilato no processo de extração a vapor



Fonte: A Autora (2020).

Evidentemente, ao diminuir a pressão do sistema, menos compostos dos OE são extraídos, aumentando assim, a concentração de metil-N-metil antranilato. É possível então, isolar cada vez mais o componente com o aumento gradativo do vácuo do sistema de extração.

Nota-se que da pressão atmosférica e temperatura de 100,1 °C para a pressão de 610 mmHg e temperatura de 94,0 °C houve uma queda de rendimento. Já da pressão de 610 mmHg e temperatura de 94,0 °C para a pressão de 460 mmHg e temperatura de 86,6 °C, mesmo havendo uma grande queda de temperatura, não houve alteração no rendimento da extração. Por último, da pressão de 460 mmHg e temperatura de 86,6 °C para a pressão de 310 mmHg e temperatura de 76,7 °C, houve uma grande queda de temperatura e da mesma forma, houve uma queda de 0,13 % no rendimento.

5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

5.1 CONCLUSÕES

O sistema projetado para realizar extração por arraste a vapor com vácuo se mostrou extremamente eficiente, permitindo a obtenção de óleo essencial em todas as faixas de pressão/temperatura estudados.

A redução da pressão de operação do processo de extração a vapor permitiu concentrar o componente majoritário metil-N-metil antranilato, de forma que sua concentração subiu de 68,37 % para 97,57 % dentro do sistema. Como consequência do processo, houve uma redução do rendimento de óleo essencial de 0,6 % para 0,3 %, o que resultou do fato de o sistema não extrair tantos compostos indesejáveis.

O processo de extração a vapor, ao operar em pressão atmosférica, apresentou rendimento de 0,6 % e concentração de 68,37 % de metil-N-metil antranilato. O primeiro ensaio com vácuo, sob pressão de 610 mmHg, permitiu concentrar o componente metil-N-metil antranilato até 89,34 % e diminuir a concentração dos componentes não desejáveis. No segundo ensaio, sob pressão de 460 mmHg, o metil-N-metil antranilato foi concentrado até 95,90 % e os outros componentes tiveram concentrações ainda menores.

O óleo extraído na pressão mais baixa, de 310 mmHg, foi o óleo mais concentrado em metil-N-metil antranilato, que apresentou concentração de 97,57 %. Como consequência, a concentração dos outros componentes foi baixíssima.

5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os trabalhos futuros pertinentes são:

Realizar um levantamento da cinética de extração, ou seja, analisar a composição do óleo para diferentes tempos de extração.

Analisar economicamente o processo, comparando as variáveis composição e quantidade de óleo obtido e a receita com os óleos resultantes.

Analisar, a partir de novas extrações em tempo prolongado, a composição do óleo essencial restante nas folhas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4 ed. Waco: Allured publishing, 2017. 809 p.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. (ed). **Handbook of essential oils: science, technology and applications**. Boca Raton, Florida: CRC Press. Taylor and Francis Group, 2010.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**. São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, abr. 2009.
- BRAITHWAITE, A.; SMITH, F. J. **Chromatographic methods**. 5 ed. Dordrecht/Boston/London. Kluwer Academic Publishers, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução de diretoria colegiada nº 2**. Ministério da Saúde, 15 de jan. 2007. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_02_2007_COMP.pdf/c966caff-1c19-4a2f-87a6-05f7a09e940b. PDF. Acesso em: 03 mai. 2020.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1997.
- CORREA, E.; QUIÑONES, W.; ECHEVERRI, F. Methyl-N-methylantranilate, a pungent compound from *Citrus reticulata* Blanco leaves. **Pharmaceutical Biology**. LUGAR, v. 54, n. 4, p. 569-571, oct. 2015.
- DCTECH INSTRUMENTAÇÃO. **Entendendo o sistema de um cromatógrafo gasoso (CG)**. 2015. Disponível em: <https://www.dctech.com.br/entendendo-um-sistema-de-cromatografia-gasosa-cg/>. Acesso em: 02 mai. 2020.
- DIDÁTICA SP ARTIGOS E EQUIPAMENTOS PARA LABORATÓRIOS. **Aparelho Clevenger com balão 2 L**. 2020. Disponível em: <https://www.didaticasp.com.br/aparelho-clevenger-com-balao-2l-junta-2440-e-torneira-de-teflon-10ml-div-120>. Acesso em: 19 mai. 2020.
- DONCA, R. **Modelagem matemática e simulação da transferência de calor e massa através de um meio poroso têxtil**. 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.
- DUGO, G.; DI GIACOMO, A. (ed). **Citrus: the genus citrus**. Londres, Inglaterra: Taylor & Francis Group, 2002.

DUGO, G.; MONDELLO, L. (ed). **Citrus oils: composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity**. Boca Raton, Flórida: Taylor & Francis Group, 2011.

EKMAN, R. (ed) *et al.*; **Mass spectrometry: instrumentation, interpretation, and applications**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2009.

FERNANDES, P. D. C. **Desterpenação de óleo de laranja utilizando líquidos iônicos**. 2017. 179 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2017.

KHAN, I. (ed). **Citrus genetics, breeding and biotechnology**. Wallingford, Oxfordshire: CAB International, 2007.

KITSON, F. G.; LARSEN, B. S.; McEWEN, C. N. **Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide**. San Diego, California: Academic Press Inc, 1996.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. **Documentos CTAA**, Rio de Janeiro, n. 8, p. 7-24, nov. 1991. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/doc8-1991_000gc3p3vcp02wx5ok01dx9lc4wnplbh.pdf. Acesso em: 03 abr. 2020.

LADANIYA, M. S. **Citrus fruit – Biology, technology, and evaluation**. 1 ed. San Diego, California: Elsevier Inc, 2008.

LEAL, P. F. **Estudo comparativo entre os custos de manufatura e as propriedades funcionais de óleos voláteis obtidos por extração supercrítica e destilação por arraste a vapor**. 2008. 275 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.

LECKERMAN LAW LLC. **Basics of gas chromatography – mass spectrometry**. Disponível em: <https://www.winning-dwi-defenses.com/basics-of-gas-chromatography-mass-spectrometry/>. Acesso em: 19 mai. 2020.

MALHEIROS, D. F. **Óleo essencial de *Mentha piperita* (Lamiaceae) no controle de monogenoideas das brânquias de *Arapaima gigas* (Arapaimidae)**. 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade tropical) - Universidade Federal do Amapá. Macapá, AP. 2014.

MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M. **Basic gas chromatography**. 2 ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2009.

MEDEIROS, H. H. B. R. D. **Fracionamento do óleo de laranja utilizando um sistema híbrido de evaporação**. 2014. 169 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas). Campinas, SP. 2014.

MERCK KGAA. **Methyl-N-methylantranilate**. 2020. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/65820?lang=pt®ion=BR>. Acesso em: 21 dez. 2020.

MF RURAL. **Bergamota montenegrina e caí**. 2018. Disponível em: <https://www.mfrural.com.br/detalhe/291530/bergamota-montenegrina-e-cai>. Acesso em: 20 set. 2020.

MORAES, H. H. Q. **Otimização experimental da extração do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*)**. 2012. 133 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Pará. Belém, 2012.

MORAIS, T. P. S. **Produção e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sob doses de cama de frango**. 2006. 38 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2006.

OLIVEIRA, C. E. L. **Caracterização do óleo essencial de *Lippia gracilis* schum e de seus principais constituintes por termogravimetria**. 2012. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012.

ORLANDA, J. F. F. **Estudo da composição química e atividade biológica do óleo essencial de *Ruta graveolens* Linneau (*Rutaceae*)**. Orientadores: Adenilde Ribeiro Nascimento, Antônio Gouveia de Souza. 2011. 122 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2011.

PERINI, J. F. *et al.*; Fractioning of Orange (*Citrus sinensis* L.) essential oil using vacuum fractional distillation. **Separation Science and Technology**. Philadelphia, v. 52, n. 8, p. 1397-1403, Apr. 2017.

PIRES, V. P. **Processo de extração de óleo essencial de *Achyrocline satureioides* (LAM) DC. por arraste a vapor: modelagem, análise do potencial aromático e retificação de compostos**. 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2017.

RODRIGUES, M. R. A. **Estudo dos óleos essenciais presentes na manjerona e orégano**. 2002. 163 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2002.

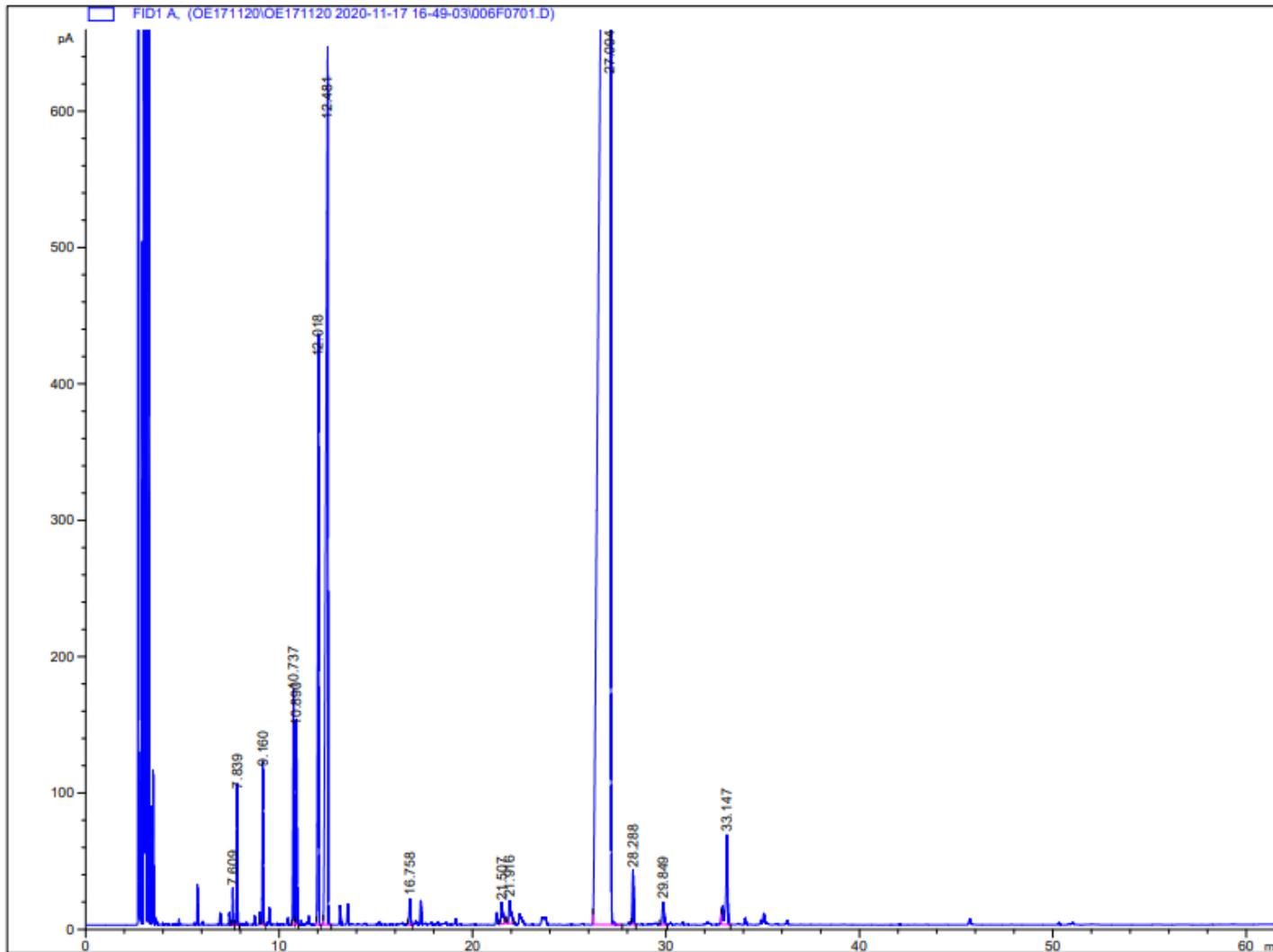
ROSADO, L. D. S. *et al.*; Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjeriço cv. Maria Bonita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 2, p. 291-296, mar./abr., 2011.

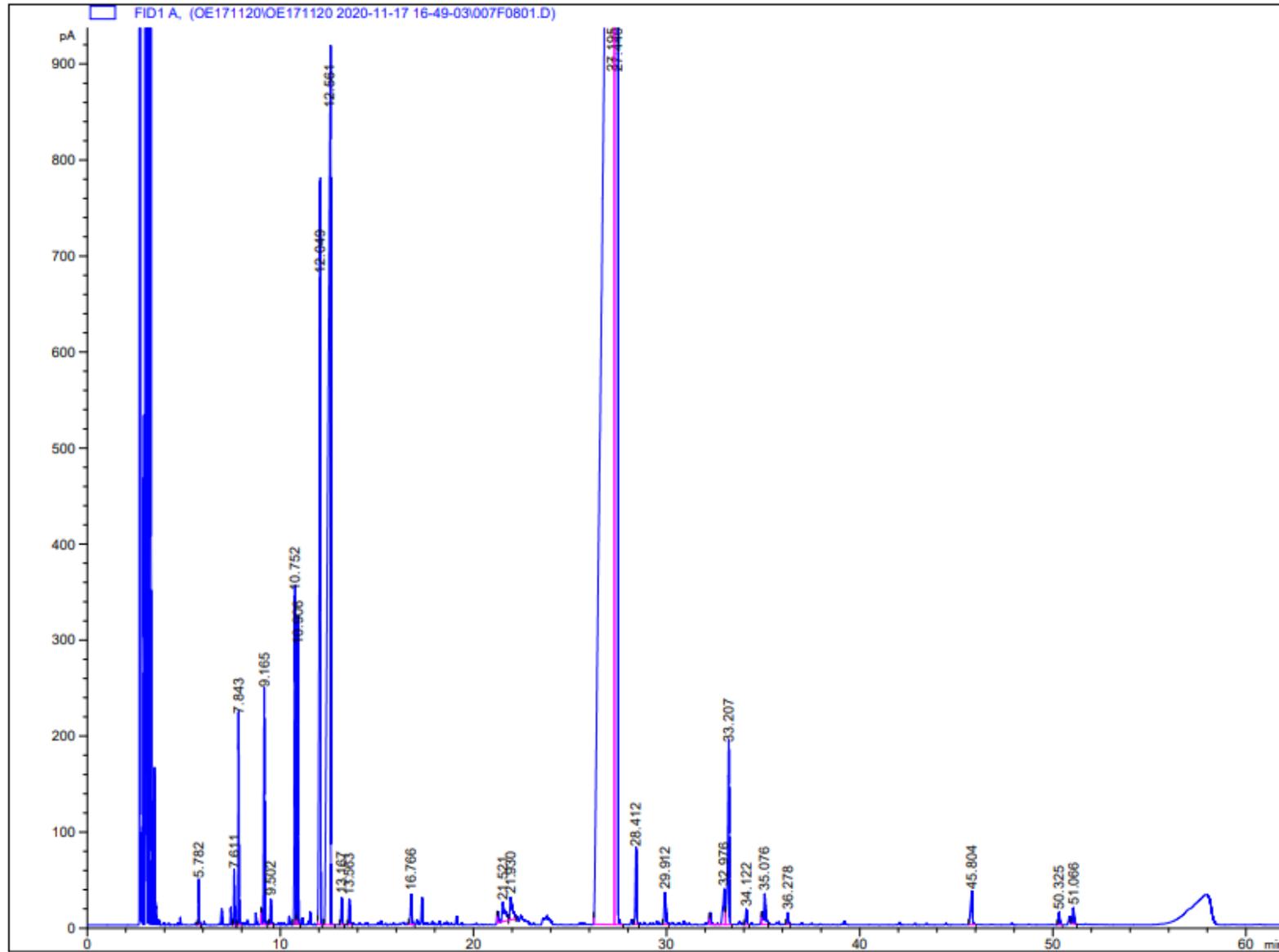
SARTOR, R. B. **Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). **Opinion on methyl-N-methylantranilate (phototoxicity only)**. In: SCCS PLENARY MEETING, 13., 2011. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_075.pdf. Acesso em: 21 dez. 2020.
- SCHOTT. **Duran®**: Tubos, capilares e bastões de vidro de boro silicato 3.3. Disponível em: <https://www.schott.com/d/tubing/4c73d75c-67df-4365-95e9-4b9f3f323140/1.4/schott-tubing-brochure-duran-portuguese.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2020.
- SCOTT, R. P. W. **Principles and practice of chromatography**. Book 1. Chrom-Ed Book Series. Library for science, LLC. 2003. *E-book*.
- SILVA, D. D. *et al.*; Quantificação do linalol no óleo essencial da *Aniba duckei* Korstermans utilizando uma nova coluna capilar POLYH4-MD em Cromatografia Gasosa. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 4, jul./ago. 2009. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400002. Acesso em: 05 mai. 2020.
- SILVA SANTOS, A. *et al.*; A proteção patentária na utilização de óleos essenciais e compostos terpênicos para o desenvolvimento tecnológico industrial. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 14-22, dez. 2006.
- SILVESTRE, W. P. *et al.*; Chemical composition of petitgrain (leaf) essential oil of different Citrus rootstocks and scion cultivars. **Journal of Essential Oil Research**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 394-406, 2020.
- SIMAS, D. L. R. *et al.*; Caracterização dos óleos essenciais de frutas cítricas. **Citrus Research & Technology**. Cordeirópolis, v. 36, n. 1, p. 15-26, 2015.
- SIMÕES, C.M.O. (org) *et al.*; **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. E-book. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=uo5vDQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 8 abr. 2020.
- SIUZDAK, G. **Mass spectrometry for biotechnology**. La Jolla, California: Academic Press, 1996.
- THORMAR, H. (ed). **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. Chichester, West Sussex: John Wiley and Sons Ltd, 2011.
- TRANCOSO, M. D. Projeto óleos essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 9, jun. 2013.
- WU, Z. *et al.*; A novel application of the vacuum distillation technology in extracting *Origanum vulgare* L. essential oils. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 39, p. 111516, nov. 2019.

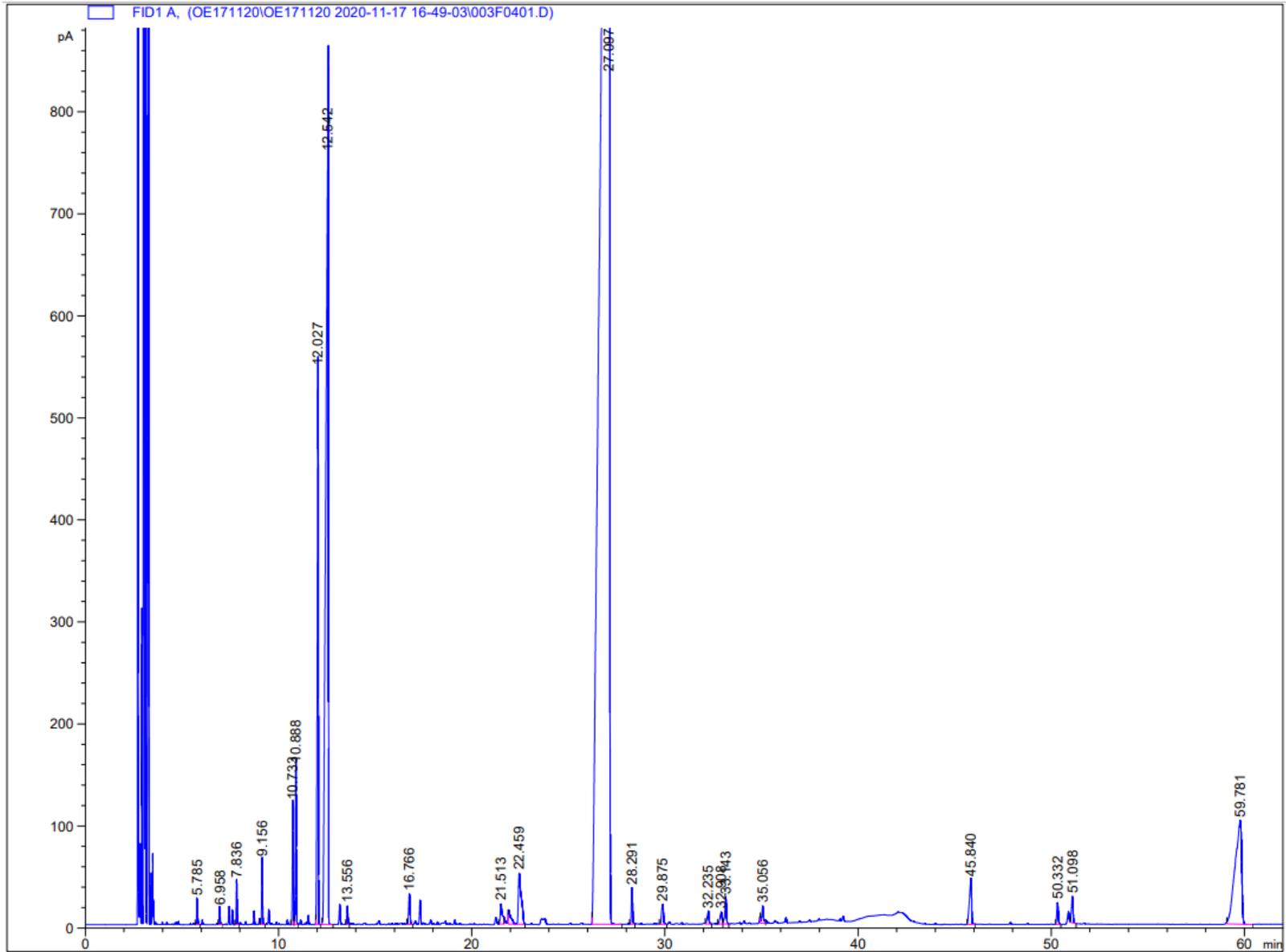
APÊNDICE

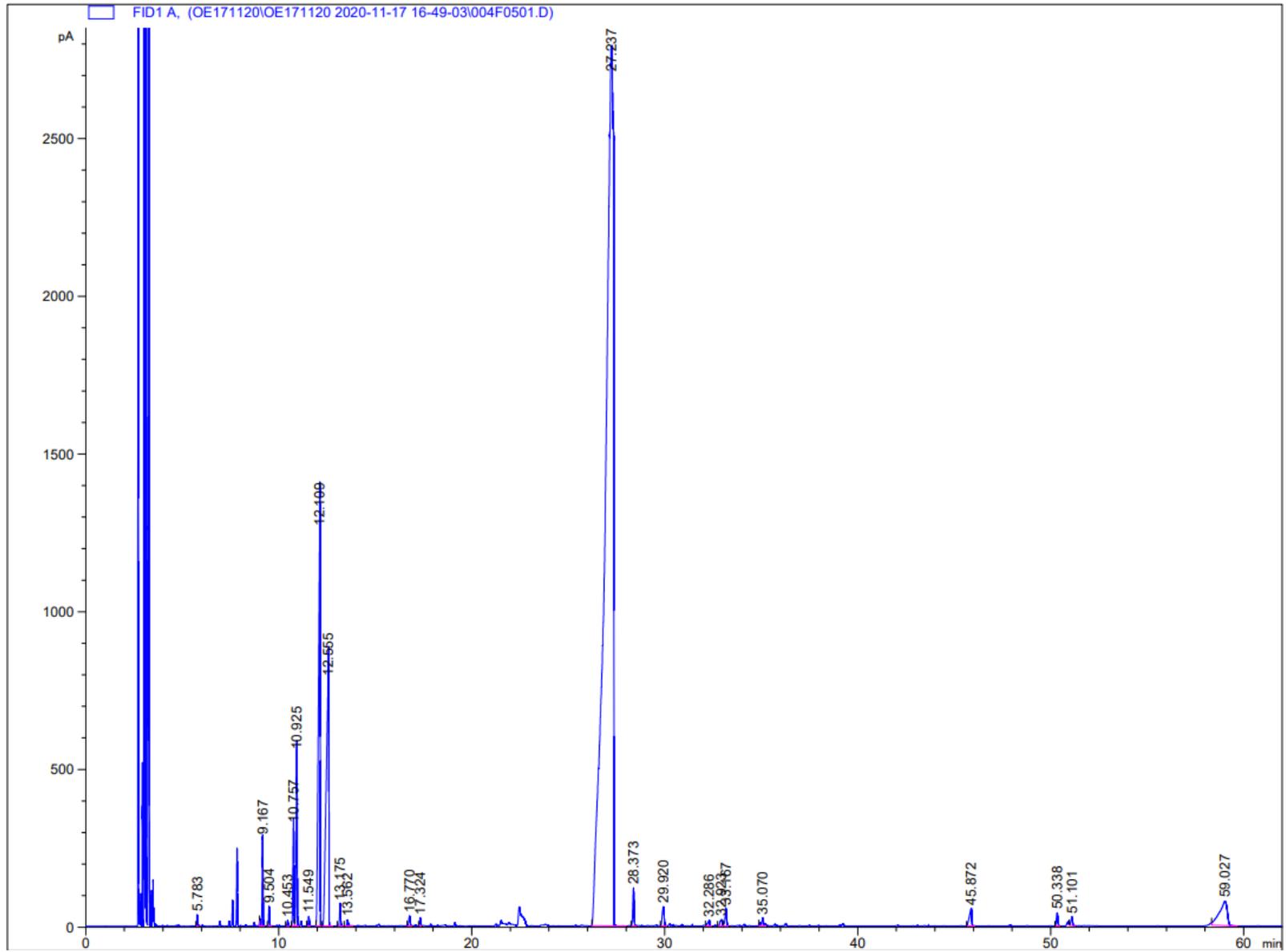
Apêndice A – CG-DIC da primeira replicata realizada em *clevenger* pelo período de 1 h

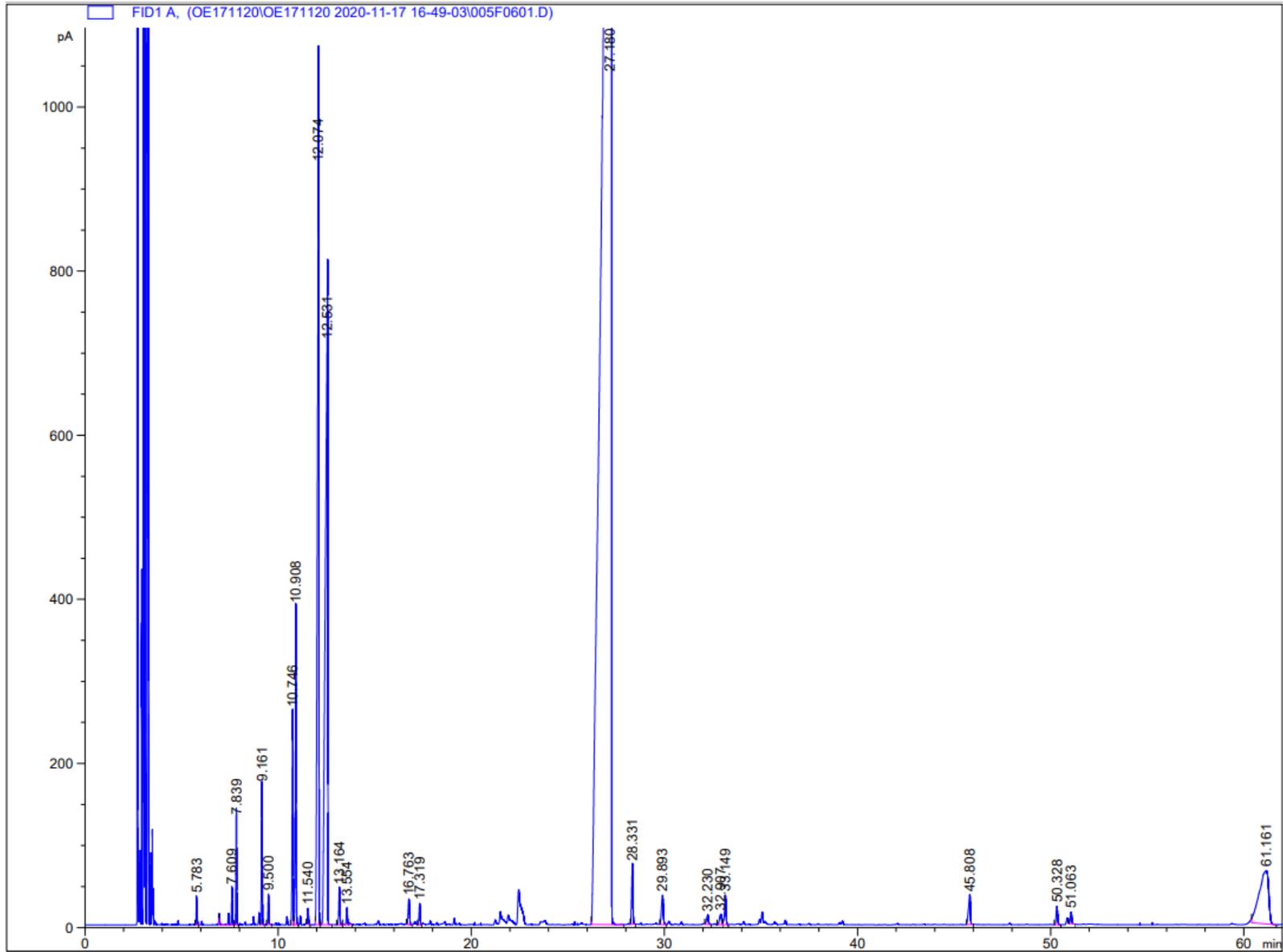


Apêndice B – CG-DIC da segunda replicata realizada em *cleveinger* pelo período de 1 h

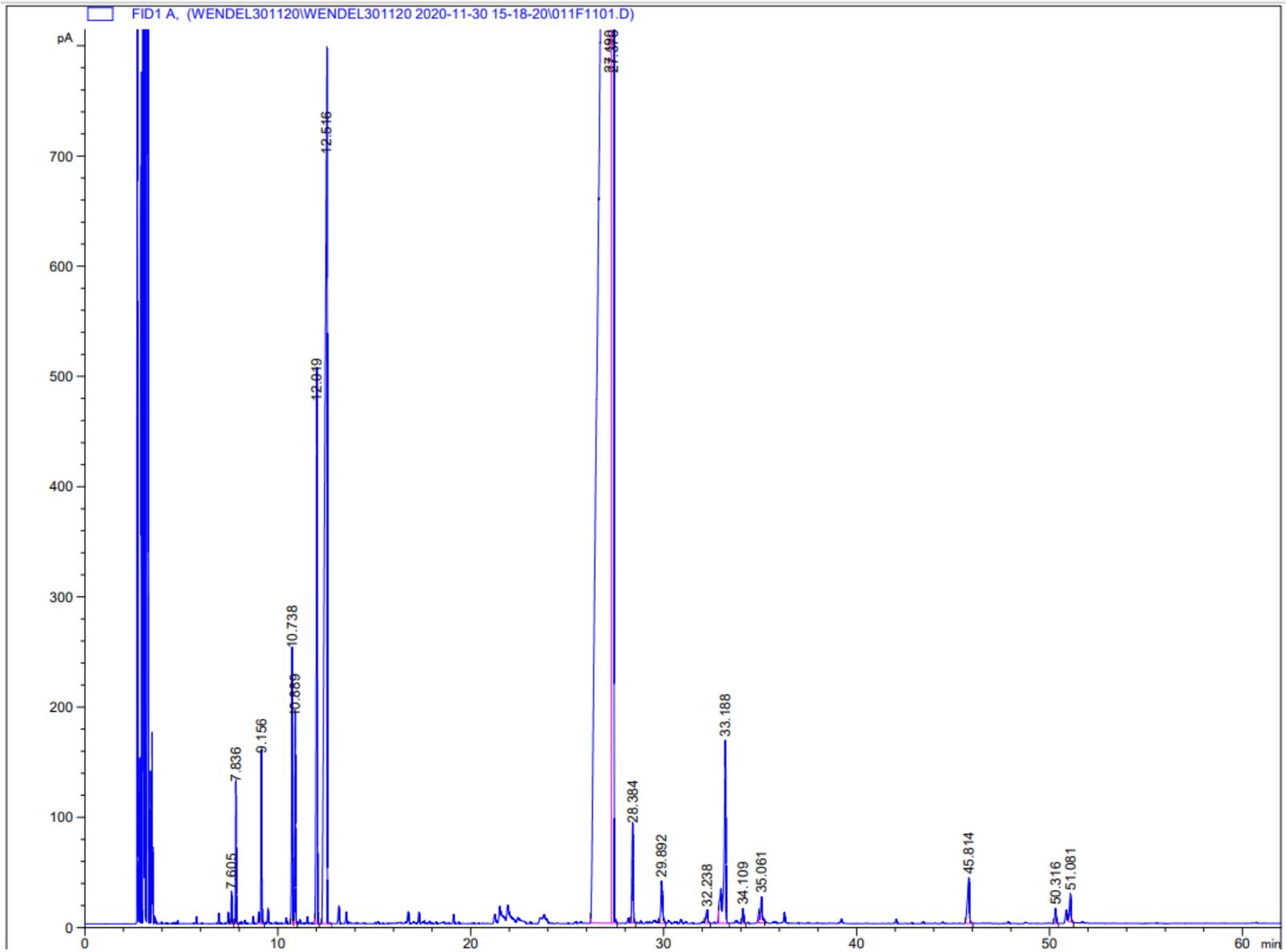
Apêndice C – CG-DIC da terceira replicata realizada em *cleveinger* pelo período de 1 h

Apêndice D – CG-DIC da primeira replicata realizada em *clevenger* pelo período de 4 h

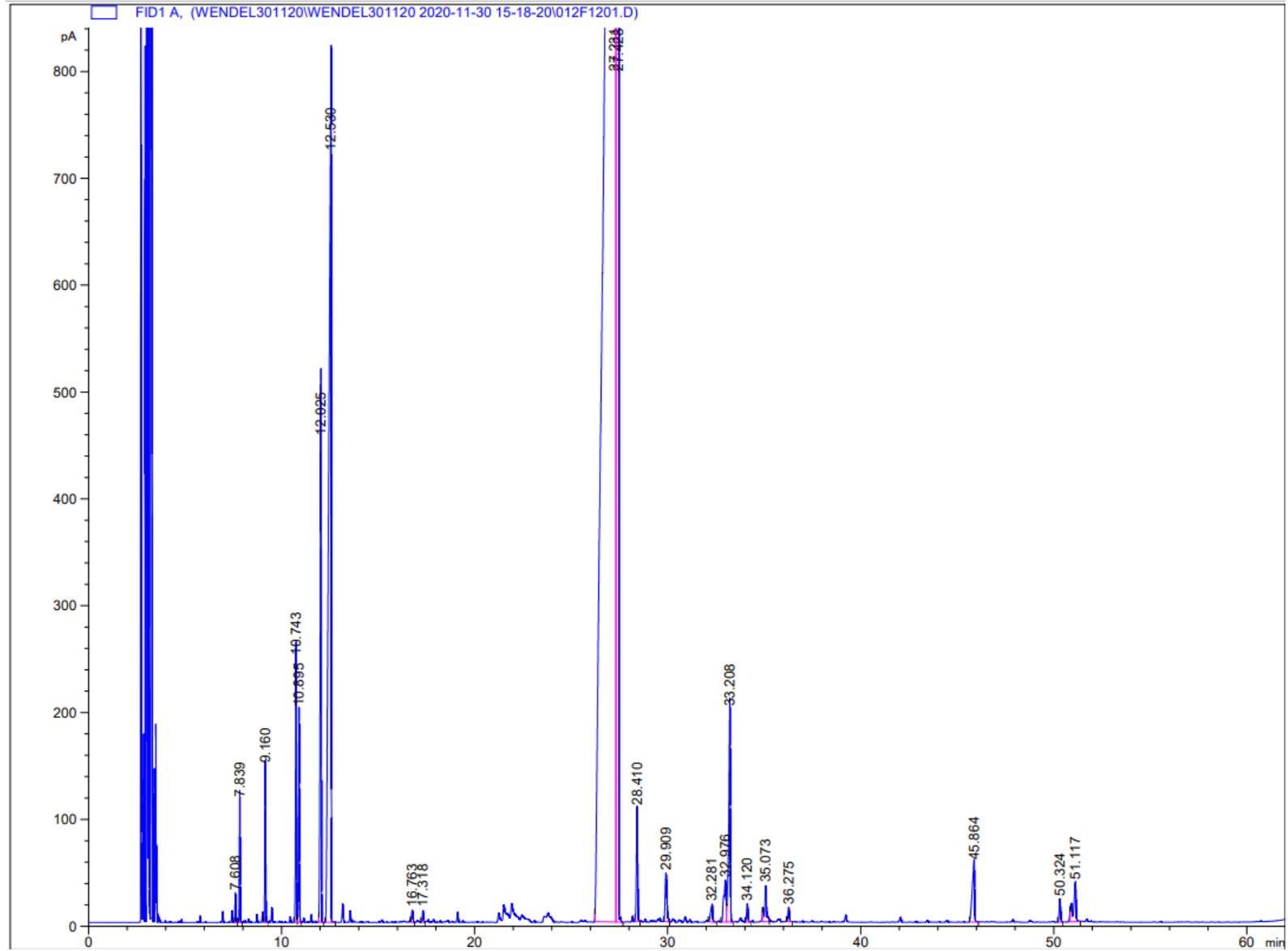
Apêndice E – CG-DIC da segunda replicata realizada em *cleverger* pelo período de 4 h

Apêndice F – CG-DIC da terceira replicata realizada em *cleveger* pelo período de 4 h

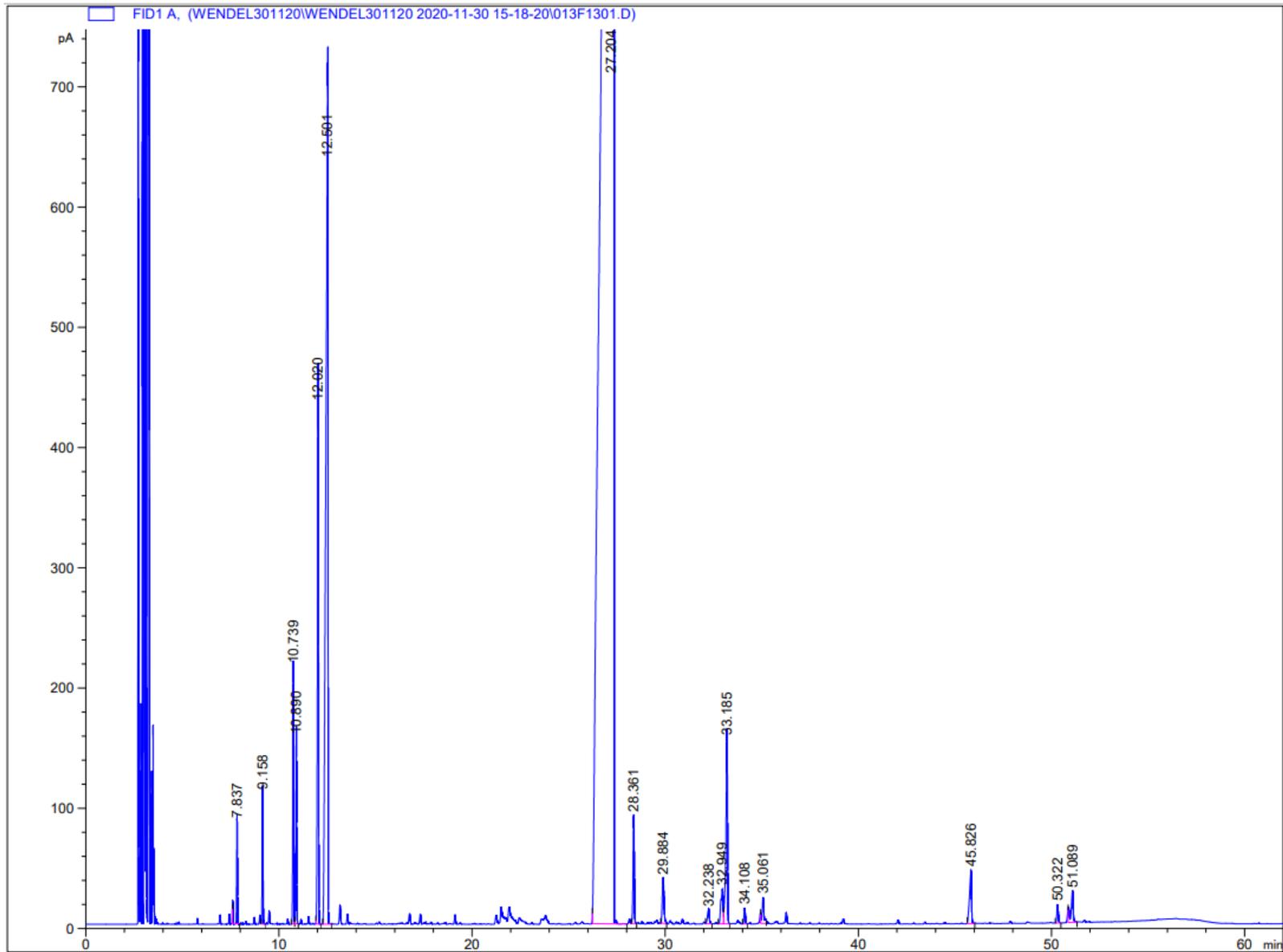
Apêndice G – CG-DIC da primeira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão atmosférica



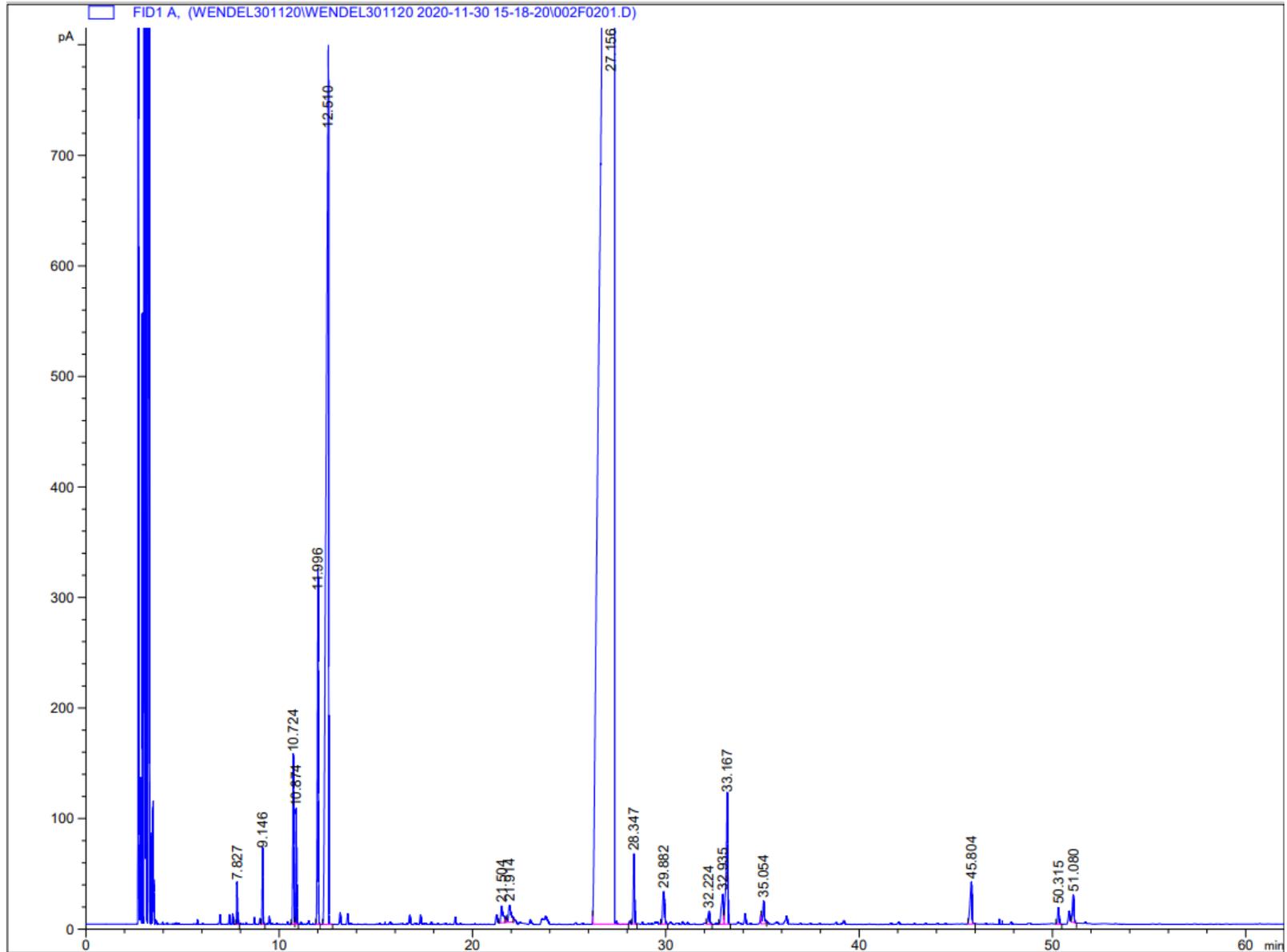
Apêndice H – CG-DIC da segunda replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão atmosférica



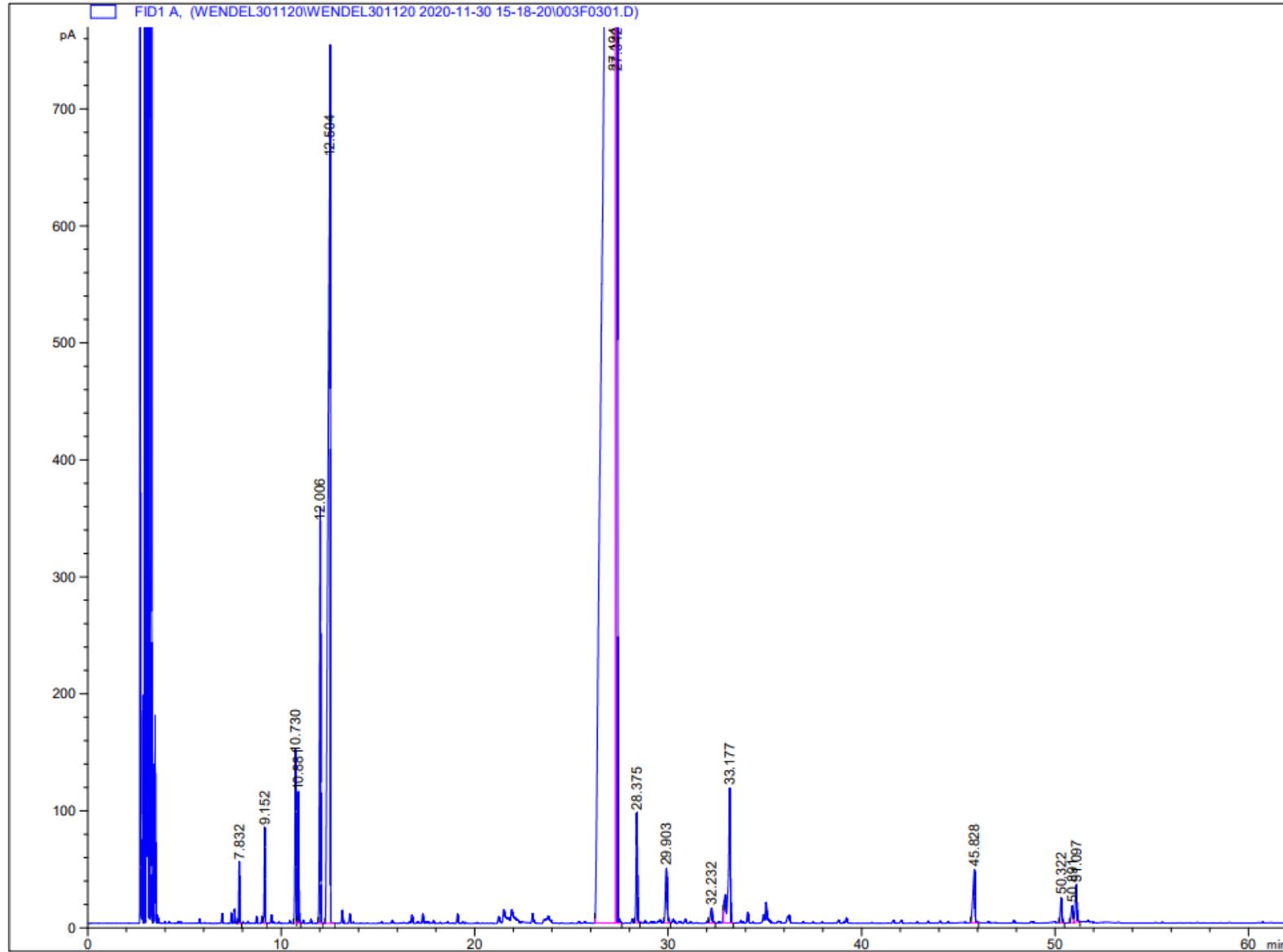
Apêndice I – CG-DIC da terceira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão atmosférica



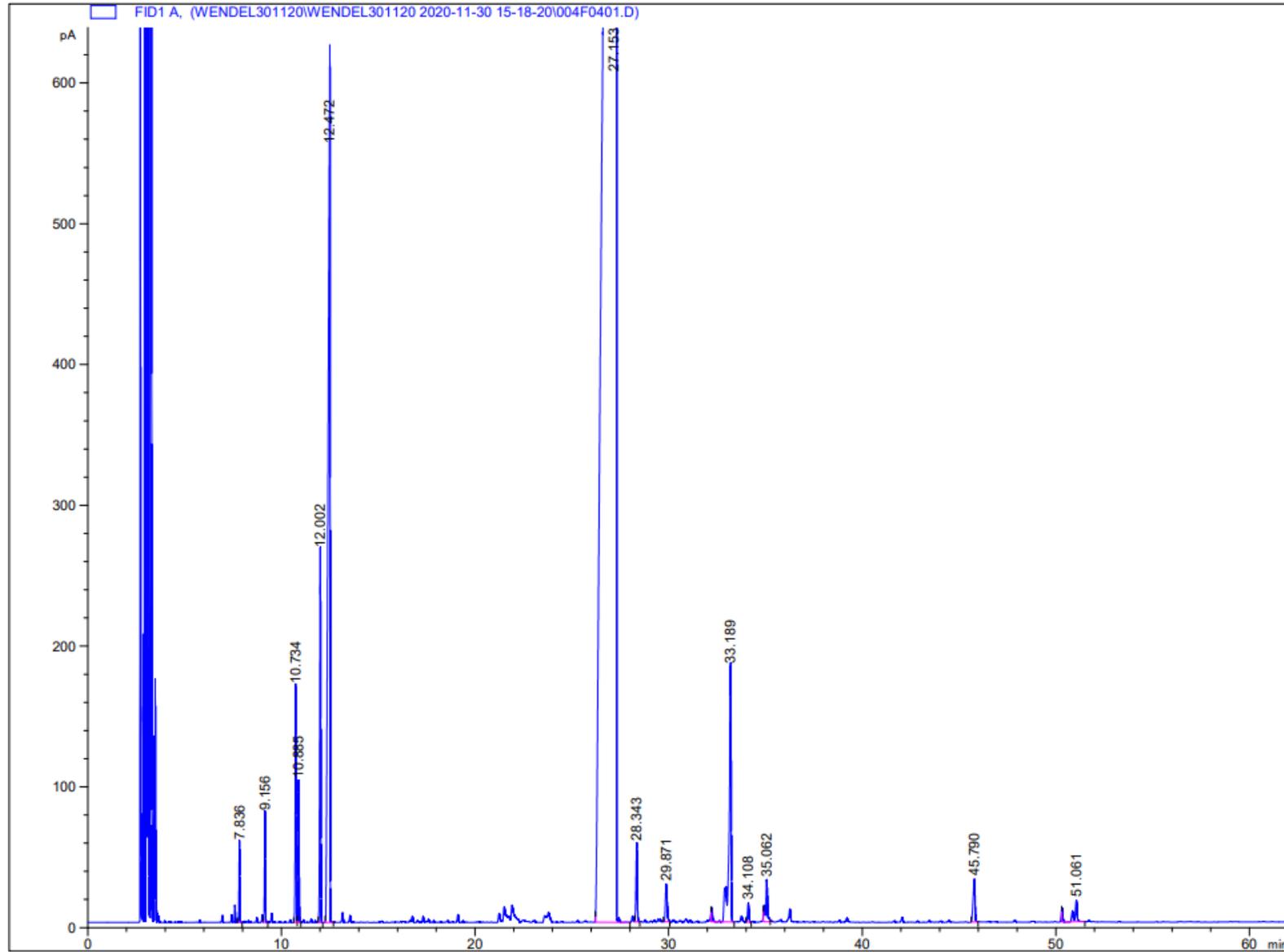
Apêndice J – CG-DIC da primeira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 610 mmHg



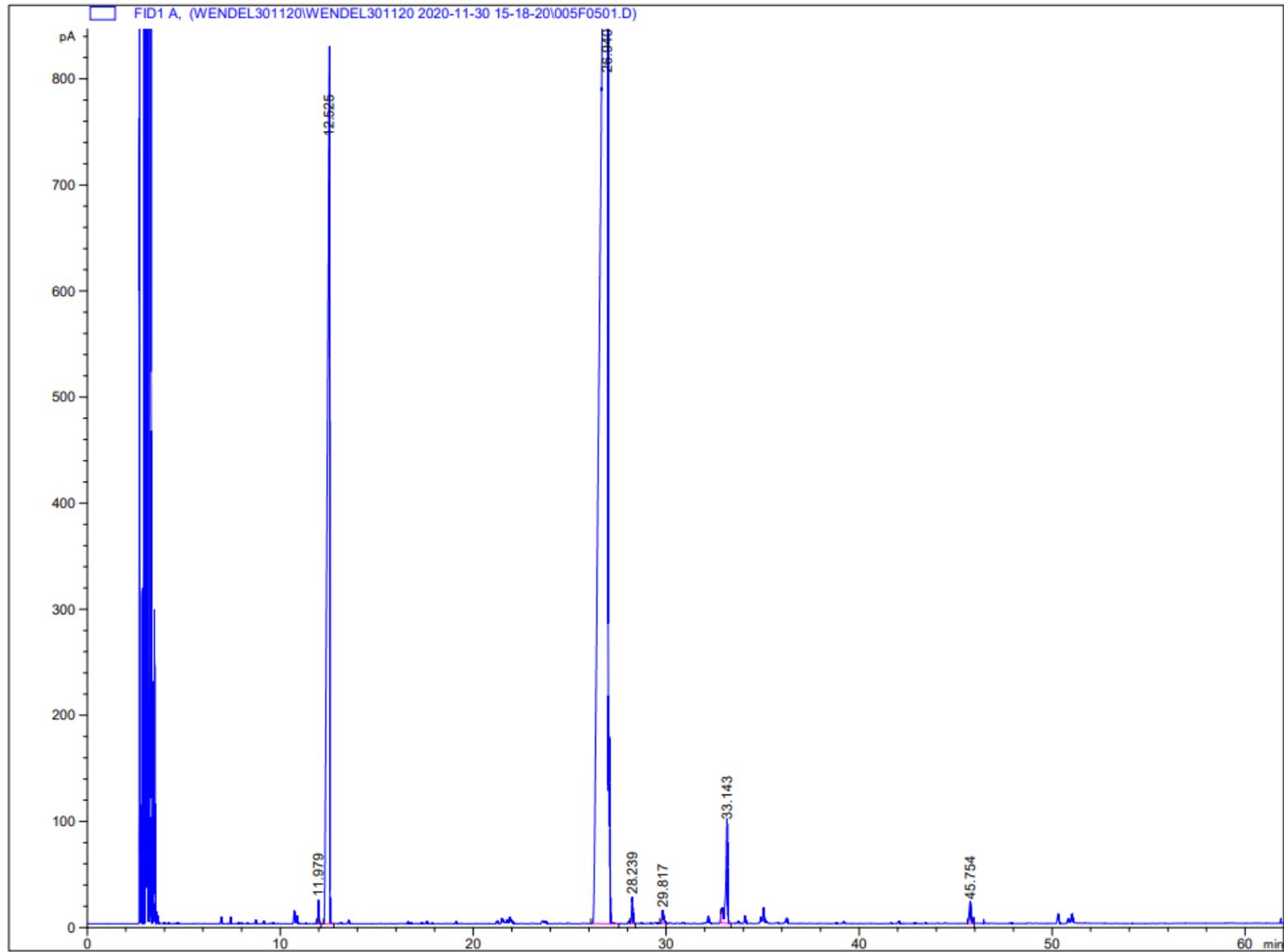
Apêndice K – CG-DIC da segunda replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 610 mmHg



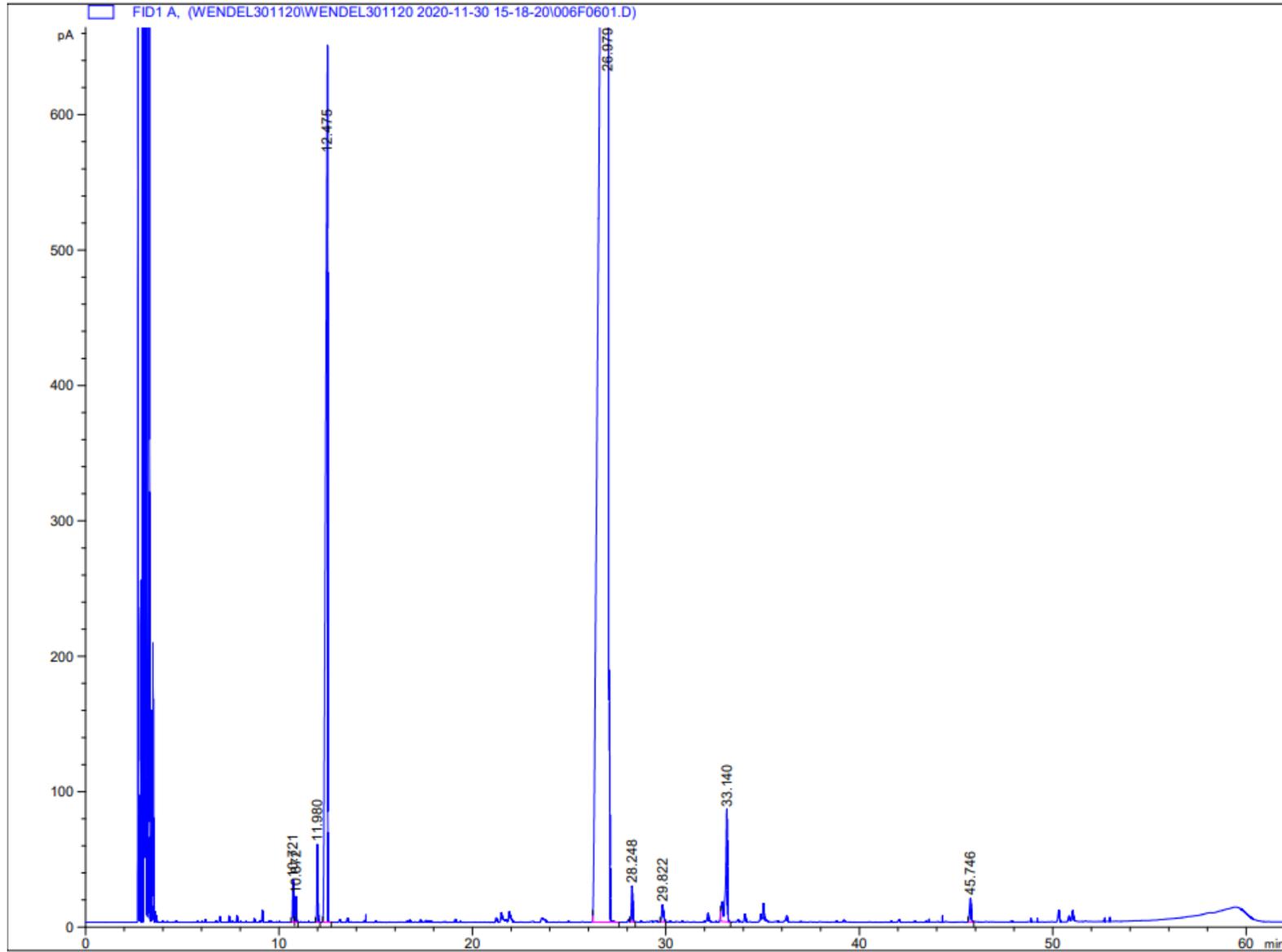
Apêndice L – CG-DIC da terceira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 610 mmHg



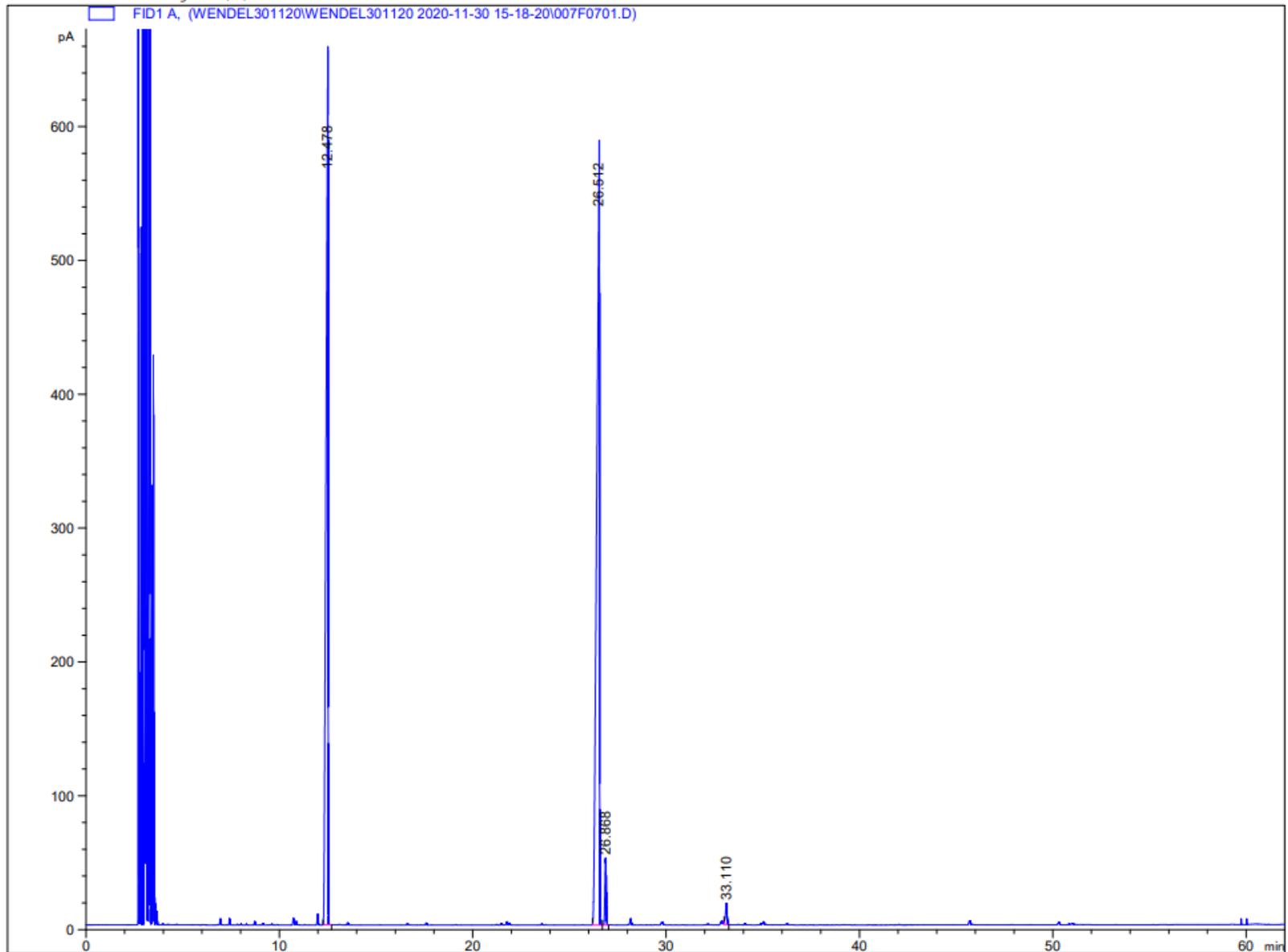
Apêndice M – CG-DIC da primeira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 460 mmHg



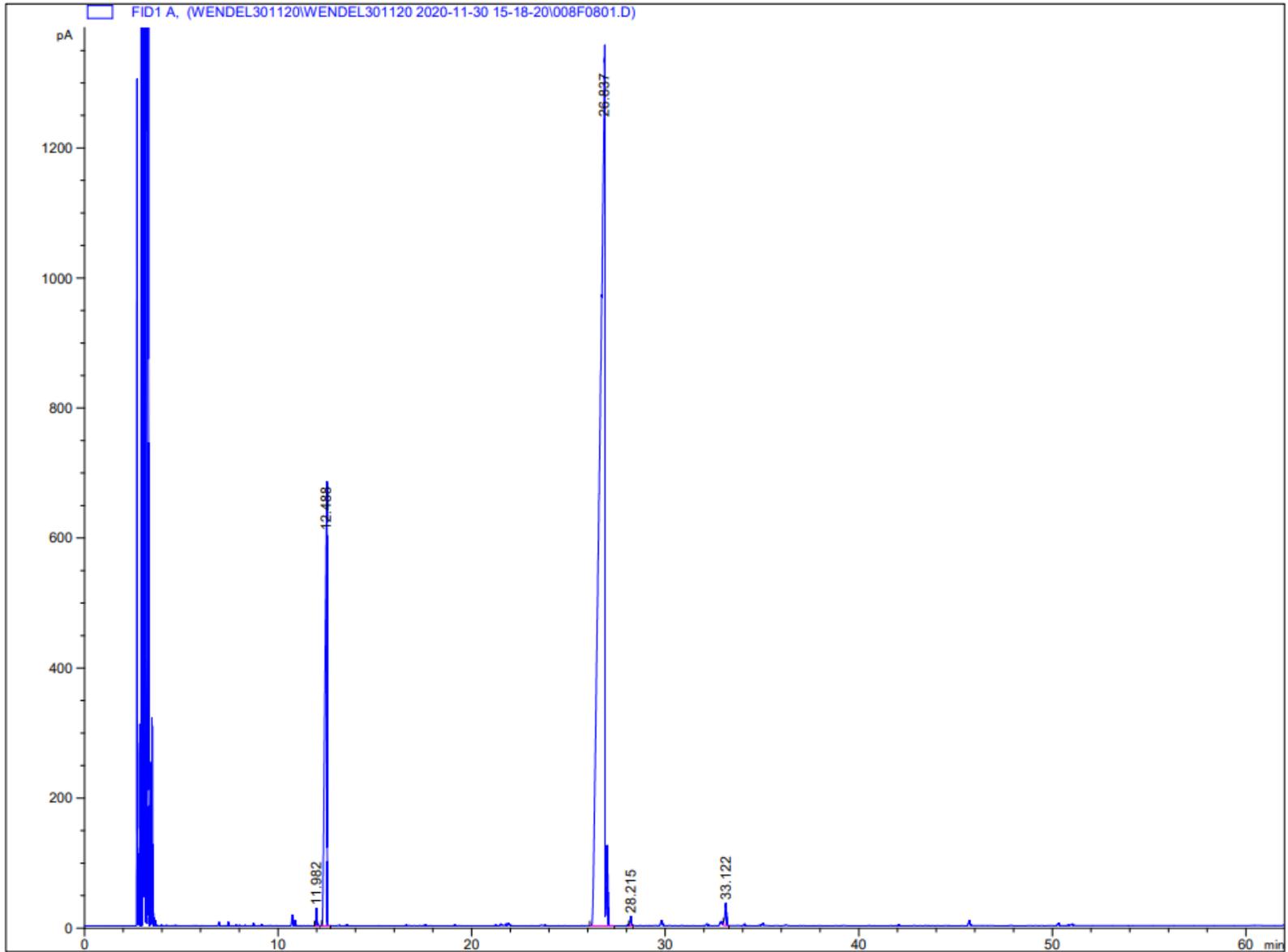
Apêndice N – CG-DIC da segunda replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 460 mmHg



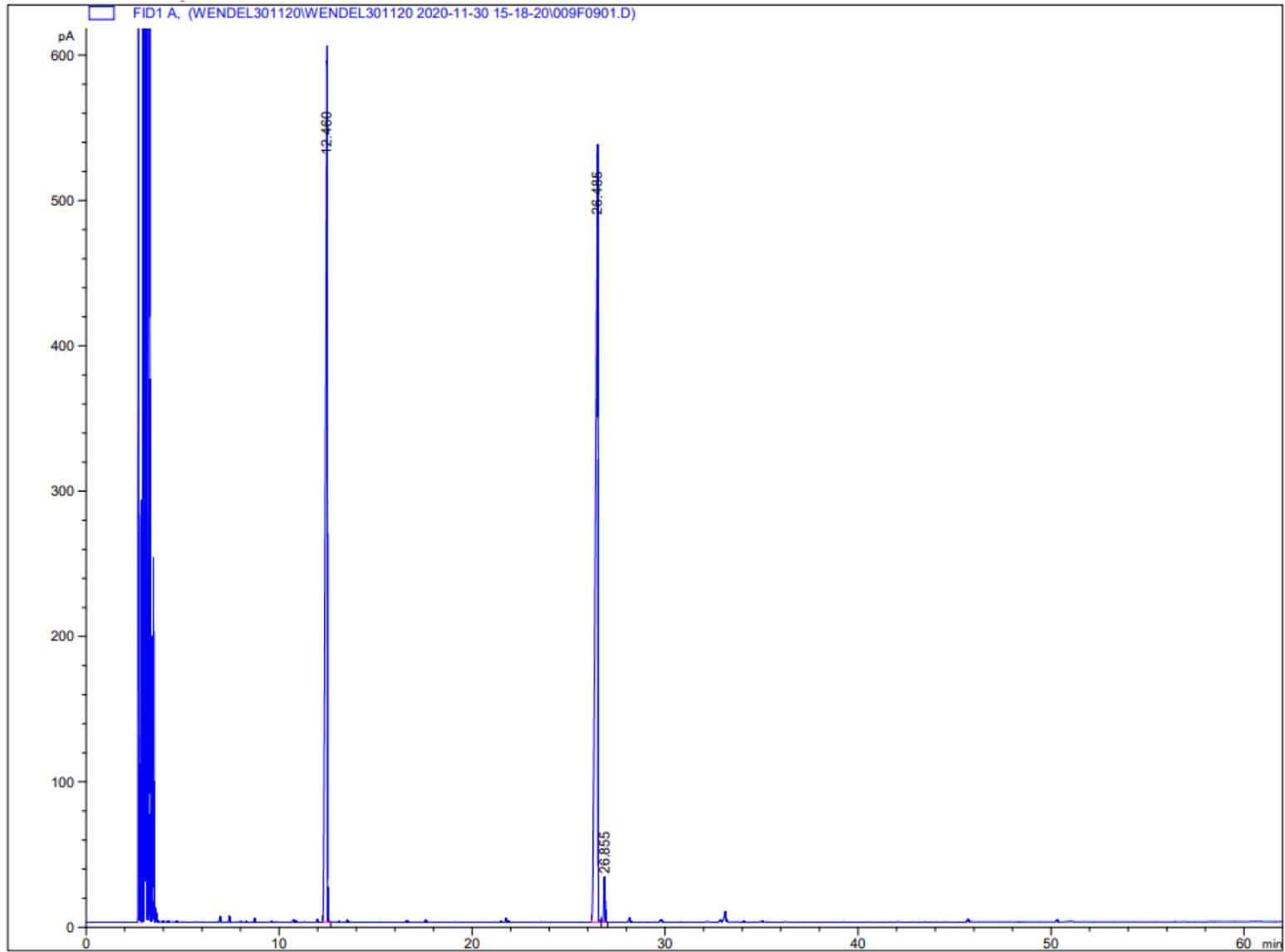
Apêndice O – CG-DIC da terceira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 460 mmHg



Apêndice P – CG-DIC da primeira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 310 mmHg



Apêndice Q – CG-DIC da segunda replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 310 mmHg



Apêndice R – CG-DIC da terceira replicata realizada no processo de extração à vapor em pressão de 310 mmHg

