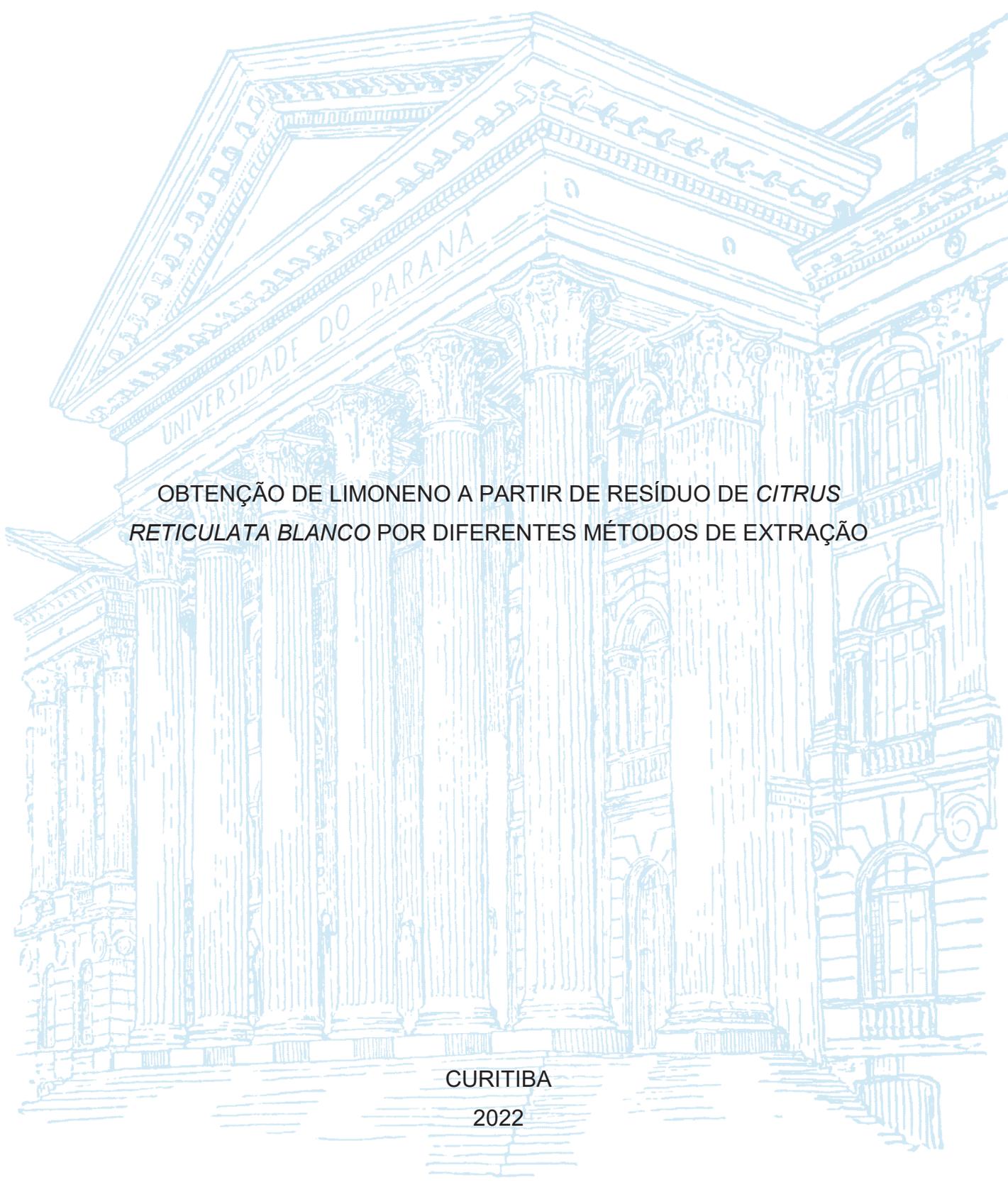


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELLE GUTH DE FREITAS BATISTA



OBTENÇÃO DE LIMONENO A PARTIR DE RESÍDUO DE *CITRUS*
RETICULATA BLANCO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

CURITIBA

2022

MARCELLE GUTH DE FREITAS BATISTA

OBTENÇÃO DE LIMONENO A PARTIR DE RESÍDUO DE *CITRUS*
RETICULATA BLANCO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Engenharia Química no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll.

Coorientadora: Prof(a). Dr(a). Mônica Beatriz Kolicheski

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Batista, Marcelle Guth de Freitas.

Obtenção de limoneno a partir de resíduo de *Citrus reticulata blanco* por diferentes métodos de extração. / Marcelle Guth de Freitas Batista. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll.

Coorientadora: Profa. Dra. Mônica Beatriz Kolicheski.

1. Engenharia química. 2. Agroindústria. 3. Propano. 4. Dióxido de carbono. I. Voll, Fernando Augusto Pedersen. II. Kolicheski, Mônica Beatriz. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Bibliotecário: Nilson Carlos Vieira Júnior CRB-9/1797

ATA Nº168

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRA EM ENGENHARIA QUÍMICA

No dia vinte e nove de novembro de dois mil e vinte e dois às 09:00 horas, na sala de Reuniões, Prédio da Engenharia Química no Centro Politécnico da UFPR, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação da mestranda **MARCELLE GUTH DE FREITAS BATISTA**, intitulada: **OBTENÇÃO DE LIMONENO A PARTIR DE RESÍDUO DE CITRUS RETICULATA BLANCO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**, sob orientação do Prof. Dr. FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), MICHELLE ROSSANA FERREIRA VAZ (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ), ELITON FONTANA (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestra está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 29 de Novembro de 2022.

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 10:26:33.0

FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

29/11/2022 14:17:20.0

MICHELLE ROSSANA FERREIRA VAZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ)

Assinatura Eletrônica

29/11/2022 20:04:20.0

ELITON FONTANA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA QUÍMICA
- 40001016056P9

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MARCELLE GUTH DE FREITAS BATISTA** intitulada: **OBTENÇÃO DE LIMONENO A PARTIR DE RESÍDUO DE CITRUS RETICULATA BLANCO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**, sob orientação do Prof. Dr. FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Novembro de 2022.

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 10:26:33.0

FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

29/11/2022 14:17:20.0

MICHELLE ROSSANA FERREIRA VAZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ)

Assinatura Eletrônica

29/11/2022 20:04:20.0

ELITON FONTANA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo o que é e tem feito em vida e por me mostrar que viver com Ele é muito melhor.

Ao meu esposo, Rafael, por todo amor, companheirismo e incentivo. Aos meus pais, Marcos e Cleide, por todo amor, incentivo, conselhos, direcionamentos e por serem exemplo de perseverança e dedicação em tudo o que fazem. À minha irmã e meu cunhado, Caroline e Fábio, pelo apoio, amor e amizade. À família Brasileiro por todo amor e apoio. Aos amigos da Comunidade Alcance que se tornaram minha segunda família. À Micheli Nolasco pela amizade, boas conversas, ensinamentos e por estar sempre presente e me apoiando nas diversas situações.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, à secretária Cintya Kunznarski, pelo suporte e profissionalismo. A cooperativa de produtores agrícolas (CopaVale) por ceder parte do resíduo utilizado nesse trabalho e informações importantes sobre produção da região, especialmente à presidente Débora Nascimento.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll pela paciência, orientação e confiança. À Prof^a. Dr^a. Mônica Beatriz Kolicheski pela orientação, ensinamentos, amizade e boas conversas. Ao Prof. Dr. Marcos Lúcio Corazza e Prof. Dr. Luís Ricardo S. Kanda pelo apoio e sugestões desde o início do trabalho. Ao aluno de iniciação científica Juliano pela dedicação e colaboração na execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva e ao técnico Thiago pelo apoio com as análises de CG-MS. Ao Prof Dr. Cícero Naves de Avila Neto e ao LACAUT pelas análises preliminares. Aos coordenadores e usuários do LACTA, LCPQ e LABPAM da UFPR pelo apoio e disponibilidade de suas estruturas e equipamentos

À Prof^a. Dr^a. Natasha Valentim, Prof^a. Dr^a. Kátia Dionísio de Oliveira e Liliane Sessi pelo apoio, ensinamentos e amizade. Aos amigos da pós-graduação Giulia, Aline, Ana, Lucas e Giovana pelo suporte, companheirismo e boas discussões.

A todos que compartilharam essa trajetória comigo, obrigada!

RESUMO

A produção de tangerinas e seus híbridos no mundo atingiu 55,3 milhões de toneladas em 2019. O suco corresponde a apenas 43% do peso dos frutos e é extraído por processo de prensagem. O restante é considerado resíduo agroindustrial, mas poderia ser processado para gerar subprodutos de valor agregado como melaço, pectinas, fibra, extratos vegetais, óleos - vegetal das sementes e essencial das cascas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi obter o extrato bruto do resíduo da indústria de suco de tangerina ponkan, *Citrus reticulata* Blanco, rico em d-limoneno por diferentes métodos de extração. O resíduo foi cortado em pedaços de aproximadamente 1 cm², seco em estufa com circulação de ar, a 50 °C durante 15 h. Verificou-se a umidade do resíduo após a secagem por método gravimétrico. A umidade do resíduo seco foi de 8,53% e definiu-se a granulometria de 20 mesh para as extrações. As extrações do óleo essencial foram realizadas por hidrodestilação, em aparelho Clevenger, com 50 g do resíduo, 500 mL de água destilada durante 2 h de extração. O rendimento em óleo essencial foi de 0,4% com fração de d-limoneno de 87,65%. As extrações Soxhlet, foram realizadas com 5 g e 150 mL de hexano e resultaram em 1,94% de extrato bruto com fração de d-limoneno de 44,83%. A extração com CO₂ supercrítico - que resultou no melhor rendimento - foi a 80 °C, 10 MPa e razão mássica biomassa: cossolvente de 1:2, na qual se obteve 1,69% de extrato e 77,70% de d-limoneno. A extração com propano subcrítico sendo o melhor rendimento obtido nas condições de 40 °C e 15 MPa e que resultem em 2,35% de extrato com 89,38% de d-limoneno.

Palavras-chave: Óleo essencial, hexano, propano, CO₂, supercrítico, d-limoneno.

ABSTRACT

The global harvest of tangerines and their hybrids reached 55.3 million tons in 2019. The production of juice corresponds to 43% of the total harvest of the fruits and is usually extracted by an extrusion process. The leftover biomass is considered agro-industrial waste but has the potential to be further processed to generate value-added by-products such as molasses, pectin, fibers, plant extracts, seed oils, and essential oils. In this study, the aim was to extract d-limonene-rich oil from the residue of the Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) juice industry utilizing different extraction methods. The residue was cut into pieces of approximately 1 cm² and dried in an oven with air circulation, at 50 °C for 15 hours. The moisture content of the dried sample was determined to be 8,53 % w/w by gravimetric method. The residue was subsequently ground in a knife mill and a particle size analysis was carried out. Samples in mesh 28 were subsequently used for all extraction. The essential oil extractions were carried out by hydrodistillation with a Clevenger apparatus, with 50 g of the residue, 500 mL of distilled water for 2 h of extraction. The essential oil yield was 0.4 % with d-limonene concentration of 87,65 %. Soxhlet extractions were performed with 5 g and 150 mL of hexane and resulted in a crude extract with a d-limonene concentration of 44,83 %. The extraction with supercritical CO₂ that resulted in the best yield was at 80 °C, 10 MPa and biomass:cosolvent mass ratio of 1:2, in which 1,69 % extract and 77,70 % d-limonene were obtained. The extraction with subcritical propane that resulted in the best yield was obtained in the conditions of 40 °C and 15 MPa and results in 2,35 % extract and 89,38 % of d-limonene

Key-words: Essential oil. Hexane. Propane. CO₂. Supercritical. D-limonene

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 <i>CITRUS UNSHIU M.</i> , OKITSU.....	19
FIGURA 2 <i>CITRUS DELICIOSA T.</i> , MONTENEGRINA	20
FIGURA 3 <i>CITRUS RETICULATA</i> BLANCO, PONKAN.....	21
FIGURA 4 TRANSFORMAÇÕES DO D-LIMONENO.....	26
FIGURA 5 APARELHO CLEVINGER PARA OBTENÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL.....	27
FIGURA 6 ESQUEMA DE EXTRAÇÃO COM APARELHO SOXHLET	30
FIGURA 7 CURVA DE EXTRAÇÃO E SUAS REGIÕES	32
FIGURA 8 MÓDULO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICO.....	43
FIGURA 9 RESÍDUO DE <i>CITRUS RETICULATA</i> BLANCO	48
FIGURA 10 RESÍDUO DE PONKAN SECO E MOÍDO	49
FIGURA 11 - HIDRODESTILAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN – (A): APARATO CLEVINGER, (B): ÓLEO ESSENCIAL E ÁGUA NO DECANTADOR.....	52
FIGURA 12 EXTRAÇÃO COM SOLVENTE POR REFLUXO DO RP1	55
FIGURA 13 EXTRATOS OBTIDOS POR EXTRAÇÃO SOHXLET A PARTIR DO RP1 COM OS SOLVENTES: (A) ÁGUA, (B) ETANOL, (C) ACETATO DE ETILA, (D) HEXANO, (E) HEXANO - RP2.....	56
FIGURA 14 ENSAIOS PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO COM OS SOLVENTES $scCO_2$ E scC_3H_8	59
FIGURA 15 CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTE $scCO_2$	61
FIGURA 16 CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTE $scCO_2$ - HEXANO.....	62
FIGURA 17 - INFLUÊNCIA DE FATORES PARA AS EXTRAÇÕES COM $scCO_2$ E $scCO_2$ -HEXANO COM VARIÁVEL DE RESPOSTA RENDIMENTO DE EXTRATO.....	63
FIGURA 18 - INFLUÊNCIA DE FATORES PARA AS EXTRAÇÕES REALIZADAS COM $scCO_2$ E $scCO_2$ -HEXANO E VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO	64
FIGURA 19 - CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO USANDO scC_3H_8	66
FIGURA 20 INFLUÊNCIA DE FATORES PARA EXTRAÇÕES COM scC_3H_8 E VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO	67
FIGURA 21 SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EXTRAÇÃO COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO	68
FIGURA 22 INFLUÊNCIA DE FATORES PARA EXTRAÇÕES COM scC_3H_8 E VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%)	69
FIGURA 23 SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EXTRAÇÕES COM scC_3H_8 E VARIÁVEL RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%).....	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CITRUS</i> <i>RETICULATA</i> BLANCO	24
TABELA 2 TEMPERATURA DE EBULIÇÃO DE SOLVENTES ORGÂNICOS ..	28
TABELA 3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA SFE COM $scCO_2$	44
TABELA 4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTO PARA SFE COM scC_3H_8	44
TABELA 5 MASSA DOS CONSTITUINTES DOS FRUTOS DE <i>CITRUS</i> <i>RETICULATA</i> BLANCO	49
TABELA 6 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DO RESÍDUO DE PONKAN	50
TABELA 7 ANÁLISES DO RESÍDUO DE PONKAN	51
TABELA 8 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE RESÍDUO DE PONKAN POR HIDRODESTILAÇÃO EM DUAS FAIXAS GRANULOMÉTRICAS.....	53
TABELA 9 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL OBTIDO PARA OS DIFERENTES TIPOS DE RESÍDUOS AVALIADOS	53
TABELA 10 RESULTADOS DO ESTUDO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO RESÍDUO DE PONKAN EM SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES	55
TABELA 11 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS COM SOLVENTES POR REFLUXO.....	57
TABELA 12 EXTRAÇÕES PRELIMINARES COM SOLVENTES PRESSURIZADOS	58
TABELA 13 CONDIÇÕES E RESULTADOS EXPERIMENTAIS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN USANDO $scCO_2$ E $scCO_2$ - HEXANO.....	60
TABELA 14 ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM $scCO_2$ E $scCO_2$ -HEXANO E VARIÁVEL DE RESPOSTA RENDIMENTO DE EXTRATO.....	64
TABELA 15 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA ANOVA PARA EXTRAÇÕES REALIZADAS COM $scCO_2$ E $scCO_2$ -HEXANO COM VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO	65
TABELA 16 CONDIÇÕES E RESULTADOS EXPERIMENTAIS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN USANDO scC_3H_8	65
TABELA 17 - ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO	67
TABELA 18 - ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%).....	69
TABELA 19 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	71
TABELA 20 PRODUÇÃO DE D-LIMONENO/ANO A PARTIR DE RESÍDUO DE TANGERINA PONKAN.....	73
TABELA 21 ANÁLISE DE PREÇO DE MERCADO DE D-LIMONENO E SEUS DERIVADOS.....	75

TABELA 22 - VALOR COMERCIAL DA PRODUÇÃO ANUAL DE D-LIMONENO APARTIR DE RESÍDUO DE TANGERINA PONKAN	75
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ANOVA	- Análise de variância
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CER	- <i>Constant Extraction Rate</i>
CG-MS	- Cromatografia gasosa com espectrofotometria de massas
CLAE	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DC	- <i>Diffusion Controlled</i>
FER	- <i>Falling Extration Rate</i>
HD	- Hidrodestilação
NREL	- <i>National Renewable Energy Laboratory</i>
OE	- Óleo Essencial
OEP	- Óleo Essencial de Ponkan
RP	- Resíduo de Ponkan
RP1	- Resíduo de Ponkan lote 1
RP2	- Resíduo de Ponkan lote 2
scCO ₂	- Dióxido de carbono supercrítico
scC ₃ H ₈	- Propano subcrítico
SE	- <i>Soxhlet Extraction</i>
SFE	- <i>Supercritical Fluid Extraction</i>

LISTA DE SÍMBOLOS OU VARIÁVEIS

ε	- Porosidade do leito
ε_{ml}	- Absortividade molar da lignina
ρ_a	- Densidade aparente
ρ_r	- Densidade real
D	- Diâmetro médio das partículas
D_m	- Diâmetro médio
D_i	- Diâmetro de abertura da peneira
LIA	- Teor de Lignina Insolúvel em Ácido
LSA	- Teor de Lignina solúvel em ácido
LI	- Teor de Lignina total
m_{inical}	- Massa de resíduo de ponkan antes da incineração (g)
m_{final}	- Massa de resíduo de ponkan após a incineração (g)
$m_{extrato}$	- Massa de extrato obtido (g)
$m_{amostra}$	- Massa de resíduo de ponkan utilizada (g)
m_{leito}	- Massa de resíduo de ponkan no leito de extração supercrítica
$m_{d-limoneno}$	- Massa de d-limoneno
P_c	- Pressão crítica
P_{d-lim}	- Produção de d-limoneno
P_{tang}	- Produção de tangerinas
R_{ext}	- Rendimento da extração
Σ	- Somatório
T_c	- Temperatura crítica
$U\%$	- Teor de umidade e compostos voláteis
UV_{ABS}	- Absorbância em 240 nm
X_i	- Fração de massa retida na peneira
V_{leito}	- Volume de resíduo de ponkan no leito de extração supercrítica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo Geral	17
1.1.2 Objetivos Específicos	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 TANGERINAS	19
2.1.1 PONKAN – <i>Citrus reticulata</i> Blanco	21
2.2 Extrato e óleo essencial de Ponkan	22
2.2.1 Características, aplicações e composição do óleo essencial de ponkan	23
2.3 D-LIMONENO	24
2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CÍTRICOS	26
2.4.1 Hidrodestilação	27
2.4.2 Extração por solventes via método Soxhlet ou Extração Soxhlet	28
2.4.3 Extração com Solventes Pressurizados	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 COLETA E PREPARO DO RESÍDUO	35
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO	35
3.2.1 Análise Granulométrica	35
3.2.2 Teor de óleo essencial	36
3.2.3 Densidade e Porosidade	37
3.2.4 Umidade e Matéria Volátil	37
3.2.5 Determinação de Cinzas	38
3.2.6 Determinação de extraíveis totais	38
3.2.7 Pectina	38
3.2.8 Lignina insolúvel e solúvel	39
3.2.9 Determinação de carboidratos estruturais	40
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE RESÍDUO DE PONKAN	41
3.3.1 Extração Soxhlet	41
3.3.2 Extrações Soxhlet sequenciais	42
3.3.3 Extração com Solventes Pressurizados	42
3.3.4 Otimização das extrações com solventes pressurizados	44

3.4 ANÁLISE DOS EXTRATOS OBTIDOS	45
3.4.1 Rendimento de Extração	45
3.4.2 Composição Química dos Extratos e Quantificação de d-limoneno .	45
3.4.3 Rendimento e seletividade de d-limoneno	46
3.4.4 Cálculo de produção de d-limoneno a partir de resíduo de ponkan	46
3.4.5 Análise estatística.....	47
4 RESULTADOS	48
4.1 Aquisição e Preparo da Matéria-Prima	48
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	50
4.3 Extratos de Resíduo de Ponkan Obtidos por Diferentes Métodos de Extração	54
4.3.1 Extração Soxhlet.....	54
4.3.2 Extração Soxhlet sequencial.....	57
4.3.3 Extração com solventes pressurizados.....	57
4.3.4 Comparação dos extratos obtidos por diferentes tipos de extração .	71
5 CONCLUSÃO	77
5.1. Sugestões para trabalhos futuros	78
REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

A conscientização sobre os impactos econômicos e ambientais da geração de resíduos exige uma transição para práticas mais sustentáveis e a adoção dos conceitos de economia circular, o que significa reutilizar, reparar, reformar e reciclar os materiais e produtos existentes. O que foi anteriormente considerado um resíduo, torna-se fonte de recursos (ROZINA *et al.*, 2021; TEIGISEROVA *et al.*, 2021).

Os frutos cítricos são produzidos principalmente para o consumo in natura, mas também para a produção de sucos de frutas. A indústria de suco cítricos brasileira produz grande quantidade de resíduos que podem ser reaproveitados como matéria-prima de produtos de alto valor agregado. O Brasil produz aproximadamente 960 mil toneladas por ano de tangerinas em uma área de cerca de 52 mil hectares plantados. O suco corresponde a apenas 43% do peso dos frutos e o restante do fruto é considerado resíduo agroindustrial, mas que poderia ser processado em subprodutos de valor agregado como melaço, pectinas, fibra, óleos de sementes e óleos essenciais (PALAZZOLO *et al.*, 2013; IBGE, 2018; SEBRAE, 2020).

Resíduo de tangerina Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser uma matéria-prima eficaz para a extração de componentes bioativos naturais, como d-limoneno, um produto químico de alto valor agregado amplamente explorado nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e na indústria de pesticidas e produtos de limpeza. Tal exploração, representa um impacto benéfico para a sociedade, agregando valor a resíduos, coprodutos e subprodutos (SHORBAGI *et al.* 2022).

Estudos realizados por Gehardt *et al.* (2012), Tao (2014) e Hou *et al.* (2019) mostraram que o óleo essencial de tangerina ponkan possui atividade fungicida e bactericida de amplo espectro. Rashid *et al.* (2013) relataram que OEP é uma matéria-prima com grande potencial para produção de biodiesel. Kwangjai *et al.* (2020) relataram que o OEP possui bioativos ansiolíticos que modificam as ondas cerebrais, contribuindo para que a fase do sono de maior recuperação de energia física ocorra por mais vezes e por períodos mais longos. Ferreira *et al.* (2018) concluíram que o extrato da casca de *Citrus*

reticulata Blanco possui propriedades antioxidantes, devido ao alto teor de d-limoneno. Dosoky e Setzer (2018) relataram atividade protetora contra fibrose pulmonar.

O resíduo de tangerina ponkan é composto por cascas, sementes e parte da polpa dos frutos e corresponde a aproximadamente 57% dos frutos. Segundo Colodel *et al.* (2018), as cascas contêm pectina, sacarose e hemicelulose. Além disso, pode-se obter ainda óleos essenciais e extratos vegetais a partir do resíduo de ponkan.

Segundo Singh, Kaur e Yadav (2021) e Kwangjai *et al.* (2020), o d-limoneno é o componente majoritário do óleo essencial de ponkan. Desta forma, este estudo teve por objetivo investigar o solvente com maior seletividade ao extrato de resíduo de ponkan, visando a otimização dessa extração para obter d-limoneno.

De acordo com Singh, Kaur e Yadav (2021) e Al-hammi *et al.* (2016) o d-limoneno pode ser obtido da casca e de resíduos de cítricos por técnicas de extração, como a hidrodestilação, extração Soxhlet, extração com fluido supercrítico. À extração supercrítica pode-se ainda adicionar cossolventes capazes de aumentar o poder de solvatação dos compostos de interesse (SINGH *et al.*, 2021; AL-HAMIMI *et al.*, 2016).

Desta forma, o presente estudo fornecerá uma investigação e avaliação comparativa do desempenho de métodos de extração e de solventes para valorização do resíduo por meio da extração do d-limoneno, visando agregar valor a um resíduo agroindustrial tornando-o comercialmente viável, gerando empregos e contribuindo para o bem-estar dos consumidores.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Obter o extrato do resíduo da indústria de suco de tangerina ponkan, *Citrus reticulata* Blanco, com alta fração de d-limoneno por diferentes métodos de extração e solventes.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a. Obter o resíduo de ponkan;
- b. Preparar a matéria-prima por secagem e moagem;
- c. Caracterizar a matéria-prima por teor de umidade, cinzas, extraíveis totais, teor de pectina, teor de lignina, teor de carboidratos e teor de óleo essencial por hidrodestilação;
- d. Realizar a extração via método Soxhlet para obtenção do extrato de resíduo de *Citrus reticulata blanco* com os solventes etanol, água, acetato de etila, β -pineno e hexano;
- e. Selecionar o melhor solvente utilizado na extração via método Soxhlet para utilizá-lo como cossolvente nas extrações com fluidos pressurizados;
- f. Realizar extrações preliminares com fluidos pressurizados com CO₂ supercrítico e propano subcrítico e CO₂ supercrítico com hexano como cossolvente;
- g. Otimizar as condições extrativas com fluidos pressurizados utilizando a ferramenta planejamento experimental.
- h. Realizar a caracterização química dos extratos a partir de diferentes métodos de extração; e,
- i. Indicar o método de extração que possibilita a maior rendimento de extrato e de d-limoneno.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico são abordados temas relevantes para o entendimento deste estudo e a história da arte sobre a extração de óleo de resíduo de *Citrus reticulata* Blanco (ponkan), iniciando com a descrição dos grupos de tangerinas e em seguida sobre características, mercado e composição da ponkan e seus derivados. A seguir, são apresentadas as características, aplicações e mercado do principal componente do óleo de Citrus, o d-limoneno, e uma descrição sobre os métodos de extração de óleo essencial e extratos.

2.1 TANGERINAS

As tangerinas são divididas em grupos de acordo com suas características mais marcantes, dos quais os principais são: Comum (*Citrus reticulata*), Satsuma (*Citrus unshiu*), Mediterrânea (*Citrus deliciosa*), King (*Citrus nobilis*) e híbridos (EMBRAPA, 2018).

O grupo Satsuma (*Citrus unshiu*) é cultivado em países subtropicais de clima moderado, como China, Coreia e Japão, e é uma das frutas mais consumidas nesses países, pois possui casca de fácil remoção e não apresenta sementes (EOM, 2016). A casca deste tipo de tangerina contém flavonóides e ácido hidroxicinâmico, possuindo deste modo diversas propriedades medicinais (INOUE, 2010). Okitsu, Owari, Miyagawa são exemplos de cultivares (EMBRAPA, 2018). A Figura 1 ilustra a tangerina Okitsu.

FIGURA 1 *CITRUS UNSHIU M.*, OKITSU.



FONTE: EMBRAPA (2016).

O grupo Mediterrânea (*Citrus deliciosa*) tem uma de suas características mais marcantes o fato que sua casca apresenta uma grande quantidade de glândulas produtoras de óleos essenciais, responsáveis pelo odor da fruta (MINTEGUIAGA, 2017). No Rio Grande do Sul, no Vale do Caí, a principal região citrícola do Estado, as tangerinas mediterrâneas são as mais produzidas, se destacando a montenegrina e a caí (mexerica-do-rio) (EMBRAPA, 2016). Estas cultivares são ideais para a produção de óleos essenciais, porém apresentam o problema de alternância de produção, em que um ano se tem uma grande produção, seguido por um com pequena produção. A Figura 2 exemplifica a espécie *Citrus deliciosa*.

FIGURA 2 *CITRUS DELICIOSA* T., MONTENEGRINA



FONTE: EMBRAPA (2018).

O grupo Comum (*Citrus reticulata*) apresenta uma grande variedade de características, sendo dividido em dois subgrupos: Ponkan e Clementina. (EMBRAPA, 2018). A tangerina Clementina tem grande importância no Marrocos e na Espanha, onde se cultivam as variações: Fina, Nules, Esbal, Oroval e Marisol (PIO *et. al.*, 2006).

Dentro do grupo comum (*Citrus reticulata*), a ponkan, foco deste estudo, é uma das cultivares mais produzida no mundo. Por ser caracterizada como um fruto pouco suculento, grande, de formato globuloso e moderadamente achatado, casca pouco aderente, sabor e odor suaves, casca e polpa de coloração alaranjada e poucas sementes, possui grande aceitação pelo consumidor (MOREIRA, 2013). A Figura 3 mostra a estrutura da tangerina ponkan.

FIGURA 3 *CITRUS RETICULATA* BLANCO, PONKAN.

FONTE: EMBRAPA (2018).

2.1.1 PONKAN – *Citrus reticulata* Blanco

As tangerinas ponkan pertencem à família Rutaceae e possuem o nome científico de *Citrus reticulata* Blanco. Os frutos possuem em média 162 g, 11 sementes, coloração amarelo-alaranjada, forma oblata, casca rugosa com glândulas de óleo proeminentes, ápice deprimido e base côncava com colarinho e pescoço (PIO, 2001; MINTEGUIAGA, 2017).

A produção de tangerinas e de seus híbridos no mundo atingiu 55,3 milhões de toneladas em 2019. A China é o maior produtor, com 71% da produção mundial, em que a cultivar mais produzida é a tangerina ponkan. O Brasil produziu 984 mil toneladas no mesmo período em uma área de cerca de 52 mil hectares plantados (IBGE, 2018). A produção brasileira de cítricos é localizada principalmente nos Estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2018).

A região do Vale do Ribeira responde por 75% da produção do Estado do Paraná, com 5,6 mil hectares. O município de Cerro Azul, onde foram adquiridos os frutos deste estudo, tem a maior produção individual no país e responde por 9,8% da oferta das variedades ponkan, montenegrina e murcote (SILVA, 2018, COMEC, 2020). De acordo com a CopaVale (Cooperativa de produtores agrícolas do Vale da Ribeira), em 2022 foram produzidas na região do Vale da Ribeira 81 mil toneladas de ponkan.

A tangerina ponkan é bastante apreciada pelo consumidor brasileiro. No Estado do Paraná, a maturação de seus frutos ocorre nos meses de março a agosto. O suco corresponde a apenas 43% do peso dos frutos e é extraído por processo de prensagem. O restante do fruto é considerado resíduo agroindustrial, mas que poderia ser processado em coprodutos de valor

agregado como melaço, pectina, fibras, extratos vegetais, óleos de sementes e óleos essenciais (PALAZZOLO *et al.*, 2013; ZEMA, 2018).

A casca da ponkan contém teor de pectina em torno de 20% e 60% de sacarose (COLODEL, 2018). Estudos realizado por Colodel *et al.* (2018), foram analisados os polissacarídeos da parede celular da casca do ponkan e encontrados 25,6% de pectinas e 3,6% de hemiceluloses. Neste estudo, empregou-se extrações sequenciais usando água e soluções aquosas de oxalato de amônia (0,5%) e de ácido cítrico (pH 2,5).

Chen *et al.* (2016) investigaram as condições de extração para obter o maior rendimento de pectina da casca da tangerina. As condições ótimas foram: potência do micro-ondas de 704 W, temperatura de 52,2 °C e tempo de extração de 41,8 min. Nessas condições, o rendimento da pectina foi de 19,9% com base no resíduo insolúvel em álcool.

Além do teor de pectina, pode-se obter óleos essenciais e extratos vegetais a partir do resíduo de ponkan. Segundo estudos realizados por Singh *et al.* (2021) e Kwangjai *et al.* (2020), o d-limoneno é o componente majoritário do óleo essencial de ponkan. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo investigar o solvente com maior seletividade ao extrato de resíduo de ponkan, visando a otimização dessa extração para obter d-limoneno.

2.2 Extrato e óleo essencial de Ponkan

No Brasil a Resolução 2 de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) traz a definição de óleo essencial (OE):

São produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Os óleos essenciais podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados, os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; por concentrados, os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos (ANVISA, 2007).

Esta mesma Resolução traz a definição de extrato seco como o produto obtido por esgotamento, a frio ou a quente, a partir de matéria-prima

vegetal seca com solventes permitidos. Devem conter os princípios sápidos aromáticos voláteis e fixos correspondentes ao respectivo produto natural e devem ser obtidos com a eliminação total ou parcial do solvente (ANVISA, 2007).

2.2.1 Características, aplicações e composição do óleo essencial de ponkan

O óleo essencial de ponkan (OEP) possui as mesmas características que os cítricos, isto é, apresenta grande capacidade antioxidante, fungicida e principalmente bactericida (TAO, 2014). São caracterizados de acordo com o grau de maturidade do fruto e do método de extração utilizado, sendo categorizados como óleo verde, óleo amarelo e óleo vermelho (DUGO, 2011). A aplicação deste óleo ocorre em diversas áreas como indústrias de perfumaria, alimentos e bebidas, materiais de limpeza e farmacêutica (SIMAS, 2015).

As características físico-químicas do OEP são definidas pela ISO 3528 (1997), a qual declara que a densidade deve estar entre 0,848 e 0,855 e o índice de refração entre 1,474 e 1,478.

Em se tratando dos OEP, estudos realizados por Gehardt *et al.* (2012), Tao (2014) e Hou *et al.* (2019) mostraram que o OEP possui atividade fungicida e bactericida de amplo espectro. Rashid *et al.* (2013) relataram que OEP é uma matéria-prima com grande potencial para produção de biodiesel. Kwangjai *et al.* (2020) relataram que o OEP possui bioativos ansiolíticos que modificam as ondas cerebrais, contribuindo para que a fase do sono de maior recuperação de energia física ocorra por mais vezes e por períodos mais longos. Ferreira *et al.* (2018) concluíram que o extrato da casca de *Citrus reticulata* Blanco possui propriedades antioxidantes, devido ao alto teor de d-limoneno. Dosoky e Setzer (2018) relataram atividade protetora contra fibrose pulmonar.

A composição química dos OE é determinada geneticamente, porém pode ser alterada devido a estímulos do ambiente, ocasionando a seletividade ou a biossíntese de outros compostos. Dentre estes estímulos, podem-se citar: a interação da planta com outros seres vivos, época do ano e horário de colheita. Além disso, diferentes estresses abióticos, como seca, concentração

de sais e metais pesados no solo, temperatura e radiação UV, podem reduzir a captação e difusão de CO₂ e altera diferentes reações bioquímicas, o que inibe ainda mais a fotossíntese e a produção de óleos essenciais e sua composição (MAHAJAN, 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2014; FLEXAS *et al.*, 2004). Sendo assim, alguns autores encontraram diferentes composições químicas para este óleo essencial, as quais são mostradas na TABELA 1.

TABELA 1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CITRUS RETICULATA* BLANCO

Componentes majoritários, de 5,1 a 96,0%	Componentes intermediários, de 1,0 a 5,0%	Componentes minoritários, de 0,0 a 0,9%	País de estudo	Autores
d-limoneno	γ -terpineno	-	Índia	SINGH <i>et al.</i> (2021)
d-limoneno	β-pineno, γ -3-careno	α-pineno, β-fellandreno	Tailandia	KWANGJAI <i>et al.</i> (2020)
d-limoneno, γ-terpineno	α-pineno, β-pineno, β-mirceno	Sabieno, p-cimeno, n-metilantranilato demetilo	Brasil	NOGUEIRA <i>et al.</i> (2011)
d-limoneno, γ -terpineno	Mirceno	α-tujeno, α-pineno, sabieno, β-pineno, α-terpineno, o-cimeno, terpinoleno, terpinen-4-ol, α-terpineol, metil éter timol	Brasil	GOMES <i>et al.</i> (2011)
d-limoneno	β-pineno, γ -terpineno	α-tujeno, α-pineno, sabieno, mirceno, r-cimeno, terpinoleno, linalol, n-decanal	Brasil	SIMAS <i>et al.</i> (2015)

FONTE: A Autora (2022).

O OEP possui como componente principal o d-limoneno (entre 89% e 95%), além de outros terpenóides em menor quantidade (SINGH *et al.*, 2021; KWANGJAI, 2020; SIMAS *et al.*, 2015). A seguir, é apresentada uma breve revisão da literatura sobre este composto.

2.3 D-LIMONENO

O d-limoneno (C₁₀H₁₆) é um hidrocarboneto alifático incolor identificado como o principal componente de OE de diferentes espécies cítricas. É um monoterpene não oxigenado, cíclico e constituído de duas unidades de isopreno. Esse é conhecido por sua agradável fragrância cítrica e é comumente

usado como agente aromatizante em alimentos (SINGH, KAUR e YADAV, 2021), além de não ser tóxico, possui propriedades organolépticas e antioxidantes. Por conta disso, possui aplicação em inúmeras indústrias, como em perfumes, tintas, componente de bio-pesticidas, bebidas e alimentos (GOTTUSO *et al.*, 2020; SARPIETRO *et al.*, 2021). Este composto possui características medicinais, sendo quimio-preventivo, antiproliferativo, anti-inflamatório e ansiolítico (SARPIETRO *et al.*, 2021; SONG *et al.*, 2021).

O limoneno aparece na natureza como dois enantiômeros, R-(+)-limoneno e o S-(-)-limoneno. O S-(-)-limoneno ou L-limoneno é adquirido de pinheiros e carvalhos, mas não possui a mesma pureza que o R-(+)-limoneno ou d-limoneno é obtido da casca de cítricos. Deste modo, o mais utilizado é o R-(+)-limoneno¹ (OLSEN *et al.*, 2004; LOPRESTO *et al.*, 2014; REHMAN *et al.*, 2021). O d-limoneno foi reportado em mais de 300 óleos essenciais vegetais, com concentração variando entre 1 e 95%. Nos óleos essenciais cítricos, é um dos principais constituintes (cerca de 68 a 98% em peso) e um dos principais componentes de resíduos de Citrus, com até 4% em peso (NEGRO *et al.*, 2016).

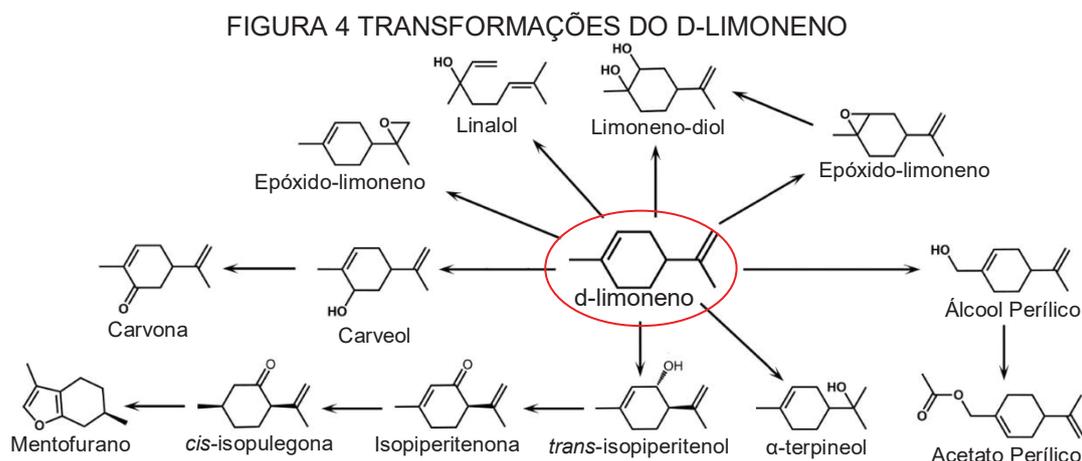
O d-limoneno e seus derivados possuem propriedades bioativas que já foram amplamente testadas. Compostos como linalool e citronelol possuem ação anticonvulsivante (PASSOS, 2009). O álcool perfílico já demonstraram bons resultados em estudos de tratamento de células malignas (MURRAY, 2013).

Este monoterpeneo é uma matéria-prima ideal para funções biocatalíticas que levam a produção natural de aromas e fragrâncias de terpenóides e pode ser convertido em diversos compostos de alto valor agregado, como α -terpineol, mentol, carvona, limonene-1,2-diol e álcool perfílico (ROTTAVA *et al.*, 2011; BICAS *et al.*, 2010; BECERRA *et al.*, 2018).

Como participa de vários processos e várias rotas reacionais são possíveis a partir do d-limoneno (Figura 4), este possui um alto valor agregado (GOTTUSO *et al.*, 2020; REN *et al.*, 2020). Derivados do d-limoneno como

¹A nomenclatura IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) correta para estereodescritores é r-limoneno e s-limoneno, porém se emprega comumente para produtos naturais os prefixos d e l, respectivamente substituindo os prefixos r e s. (IUPAC, 2021)

carveol, α -terpineol e epóxidos podem chegar a custar de duas a dez vezes mais o valor de seu precursor, o que torna o d-limoneno uma importante matéria-prima. Além disso, o d-limoneno foi identificado como um produto de base biológica eficaz para substituir compostos orgânicos voláteis (VOCs) e como um solvente de extração para processos de separação (GRV, 2019).



O d-limoneno pode ser obtido da casca e de resíduos de cítricos por técnicas de extração, como a hidrodestilação, extração com solventes via método Soxhlet, extração com fluido supercrítico. À extração supercrítica pode-se ainda adicionar cossolventes capazes de aumentar o poder de solvatação dos compostos de interesse (SINGH *et al.*, 2021; AL-HAMIMI *et al.*, 2016).

2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CÍTRICOS

O método de extração é um dos fatores que define o perfil químico dos extratos e pode ser utilizado de acordo com a finalidade do uso do óleo extraído. Neste estudo foram avaliados os métodos de extração por hidrodestilação e extração por solvente. Nesta foram adotados solventes orgânicos na pressão atmosférica, pressurizado e pressão supercrítica em diferentes temperaturas.

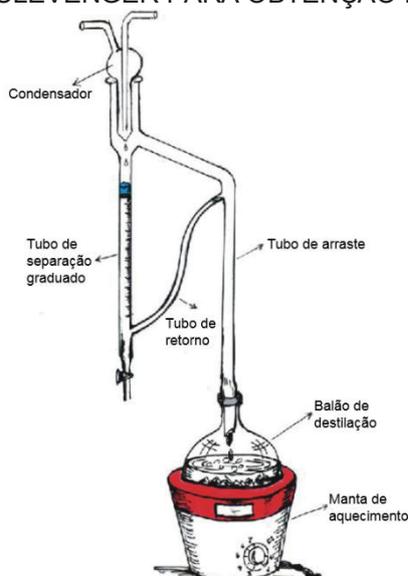
Para realizar a extração, o resíduo sofre um pré-tratamento que consiste de secagem e moagem. O tempo de secagem varia de 12 h a 24 h e a temperatura na faixa de 45 °C a 50 °C (Golmohammadi, 2018; Ozturk *et al.*,

2019). Dao *et al.* (2020) utilizaram cascas de *Citrus reticulata* Blanco com diâmetro de partícula entre 1 e 3 mm. Boudjit *et al.* (2022) utilizaram pó de cascas de Citrus de diâmetro de partícula entre 0,1 e 1 mm.

2.4.1 Hidrodestilação

A hidrodestilação é uma técnica tradicional de extração de óleo essencial que consiste na evaporação de líquidos imiscíveis. A simplicidade do equipamento e sua alta seletividade são aspectos positivos desta abordagem. Com a utilização do aparelho tipo Clevenger, mostrado na Figura 5, é possível extrair e separar compostos voláteis e não voláteis (BANDONI, 2003).

FIGURA 5 APARELHO CLEVENGER PARA OBTENÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL



FONTE: Adaptado de Rozwalka (2003).

O material é imerso em água e este sistema é aquecido até atingir o ponto de ebulição. Se o aquecimento for por chama direta, o nível de água deve ser suficiente para não degradar o material, mas é possível recircular a água para suprir a necessidade deste solvente durante toda a extração. A seguir, os vapores passam por um condensador e como a água é imiscível com as moléculas terpênicas do OE, os mesmos podem ser separados por decantação (NEGRO, 2016; BRAHMI, 2021).

O tempo total de destilação é função dos componentes presentes no óleo essencial. Se o óleo contém compostos de alto ponto de ebulição, o tempo

de destilação deve ser mais longo. Porém, quanto maior o tempo, mais provável que haja degradação térmica do material. Contudo, as variáveis que interferem no rendimento de OE são o tempo de extração e o tamanho de partícula da matéria-prima vegetal (NEGRO, 2016; BRAHMI, 2021; ATTISANTOS *et al.*, 2005).

Os principais pontos positivos estão relacionados a sua simplicidade, como baixo custo, e de fácil manuseio. Enquanto os pontos negativos estão associados ao fato da hidrodestilação ser um método que requer tempo elevado de extração e do material estar constantemente imerso em água. Deste modo, acarreta na hidrólise de certos componentes, como ésteres, na polimerização de outros, como aldeídos e na dissolução de compostos oxigenados como fenol na água (HANDA *et al.*, 2008; ASBAHANI *et al.*, 2015; YADAV e YADAV, 2016).

Sharma e Vashist (2015) extraíram óleo essencial de cascas de *Citrus reticulata* Blanco e obtiveram rendimento de 1,5% em base seca utilizando cascas em pó e tempo de extração de 2 horas.

2.4.2 Extração por solventes via método Soxhlet ou Extração Soxhlet

A extração Soxhlet (*Soxhlet Extraction – SE*) foi relatada como a técnica de extração mais eficiente, na qual a amostra é colocada em um cartucho e o solvente, em um balão de destilação. A SE tem como objetivo proporcionar menor degradação térmica. Os solventes mais utilizados são orgânicos, como: acetona, hexano, éter de petróleo, metanol, acetato de etila e o etanol. A TABELA 2 mostra as temperaturas de ebulição dos solventes mais utilizados em SE (AREIAS *et al.*, 2000; LI *et al.*, 2009; ESONYE *et al.* 2021).

TABELA 2 TEMPERATURA DE EBULIÇÃO DE SOLVENTES ORGÂNICOS

Solvente	Temperatura de ebulição (°C)
Acetato de etila	77,2 ± 0,2
Acetona	56,2 ± 0,3
Etanol	78,35 ± 0,2
Éter de petróleo	36,1 ± 0,2 a 68,7 ± 0,3
Hexano	68,7 ± 0,3
Metanol	64,7 ± 0,3
B-pineno	166,0 ± 0,1

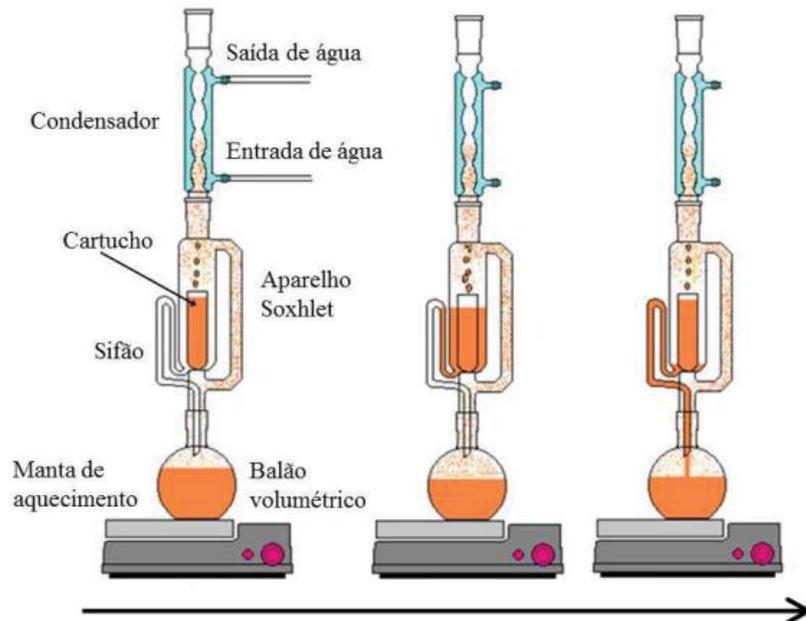
FONTE: Base de dados NIST.

O β -pineno é um solvente renovável, terpênico, encontrado como componente minoritário no OE de Citrus e um dos componentes majoritários no OE de pinus, obtido na destilação da terebentina (TANZI *et al.*, 2012). Oliveira (2018) observou que a utilização de β -pineno extrai ácidos graxos de cana-de-açúcar de forma gradual e diretamente proporcional ao tempo e concluiu que é possível obter extratos com características físico-químicas similares aos extratos obtidos com hexano. Bertouche *et al.* (2013) utilizou α -pineno, temperatura de ebulição de 156,8 °C, na extração de óleo de amendoim, soja, girassol e de oliva, mostrando que o α -pineno pode atuar como um possível substituinte de solventes oriundos de petróleo. Até o momento, não foram encontrados na literatura trabalhos que utilizassem β -pineno na extração de RP1. Uma desvantagem do uso de β -pineno é o seu alto ponto de ebulição, 166,1°C (NIST).

O processo pode ser efetuado de diversas maneiras, assistido por ultrassom ou por micro-ondas, combinando a SE e a destilação a vapor e com membranas. A mais tradicional é por meio do aparelho Soxhlet (Figura 6), no qual o solvente é vaporizado, sobe até o condensador e o líquido condensado goteja sobre a matéria-prima extraíndo o óleo. Quando o volume de líquido atinge o nível do sifão, todo o líquido é esgotado para o balão. Então, se inicia um novo ciclo de extração e o solvente é recirculado através da amostra, o que facilita a transferência de massa. Esta técnica é simples, porém a amostra permanece na temperatura de ebulição do solvente durante todo o tempo de extração (LI *et al.*, 2009; DUPUY *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012; PAVLIC *et al.*, 2021).

Existem muitos fatores que influenciam a taxa de extração, como tamanho de partícula, natureza do solvente, temperatura e agitação. Quanto maior a área superficial da matéria-prima vegetal, mais o solvente é infiltrado na amostra e mais fácil se torna a transferência de massa. A polaridade dos solventes é um fator de extrema importância para a composição do extrato obtido, pois solventes polares extraem compostos oxigenados em maior quantidade, enquanto solventes apolares, hidrocarbonetos (KRISTIAWAN *et al.*, 2012; ESONYE *et al.* 2021).

FIGURA 6 ESQUEMA DE EXTRAÇÃO COM APARELHO SOXHLET



FONTE: Adaptado de Gastaldi (2010).

Solventes apolares, como o hexano, em muitos casos apresentam características vantajosas como: recuperações simples, baixo calor latente de vaporização, estreita e baixa faixa de ponto de ebulição e alta solubilidade. Contudo, sua aplicação traz sérias preocupações sobre saúde, segurança e meio ambiente e, conseqüentemente, é classificado como perigoso (CASTEJON *et al.*, 2018).

Solventes polares mais estudados foram acetona, acetato de etila, isopropanol e etanol. Os solventes polares são considerados por estabilidade térmica, baixa pressão de vapor e por não serem inflamáveis. Além disso, a maioria deles é naturalmente ocorrente e derivado de agro-resíduos (CHEMAT *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2017; ESONYE *et al.*, 2021).

Rashid *et al.* (2013) realizaram a SE de sementes de *Citrus reticulata* a fim de obter ácidos graxos. Foi utilizado como solvente hexano durante 6 h e diâmetro médio de partícula de 0,8 mm. O rendimento obtido foi de 28,5%.

Lopresto *et al.* (2014) realizaram a SE para obtenção de d-limoneno a partir de cascas de *Citrus limon*. Utilizaram 2 g de biomassa seca com diâmetro de partícula entre 125 μm e 1 mm e 50 mL de hexano. A extração ocorreu durante 4 h na temperatura de ebulição do solvente e o rendimento de d-limoneno foi de 0,95%.

Li *et al.* (2012) realizaram SE a partir de *Citrus reticulata* Chachi, utilizando 1.0 g de cascas secas com diâmetro de partícula entre 0,3 e 0,4 mm e 30 mL de metanol. A extração ocorreu durante 4 h a temperatura de 80 °C.

2.4.3 Extração com Solventes Pressurizados

2.4.3.1 Extração com Fluido Supercrítico

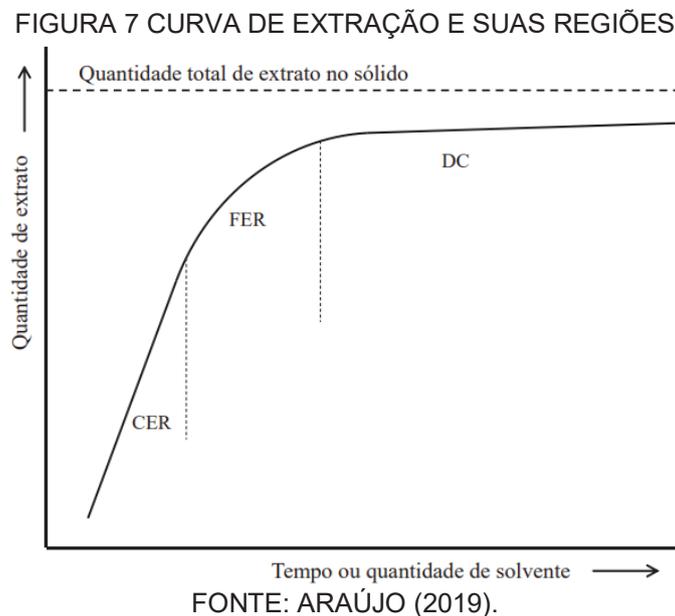
A Extração com fluido supercrítico (SFE – *Supercritical Fluid Extraction*) tem sido considerada como tecnologia verde e método eficiente para extrair compostos de matrizes naturais. Na SFE a matéria-prima vegetal é colocada no extrator e neste o fluido supercrítico entra em contato e carrega o óleo presente no material. Para a otimização desse método de extração, as variáveis, como temperatura e pressão de extração, tempo de confinamento e vazão de fluido, são ajustadas. Após a extração, o solvente é facilmente separado do extrato obtido pela depressurização do extrator. Os solventes mais utilizados na SFE são dióxido de carbono, propano e butano (YOUSEF, 2019; ARAÚJO *et al.*, 2019; FRANCO-ARNEDO, 2020).

Neste método, as condições operacionais do processo são mantidas acima da temperatura crítica (T_c) e da pressão crítica (P_c) do solvente para fluidos supercríticos. Nessas condições, o solvente exibe alta difusividade (semelhante a gases) e alto poder de solvente (semelhante a líquidos), características que permitem maior transferência de massa e taxa de extração. Fluidos pressurizados apresentam maior poder de dissolução e propriedades de transporte, que favorecem a alta capacidade de extração. Isso permite substituir os solventes orgânicos, capazes de acelerar as reações de auto-oxidação e decomposição do produto extraído (LONG, 2019; NDAYISHIMIYE, 2018; RIERA, 2004).

O processo de extração supercrítica ocorre em duas etapas: extração estática e extração dinâmica. A extração estática é o período em que a célula de extração é totalmente preenchida com solvente e a matéria prima vegetal fica em contato com o solvente nas condições de pressão e temperatura de operação para que ocorra a absorção do solvente pela matéria prima. Após o

tempo de extração estática, inicia-se a etapa de extração dinâmica, nas condições de pressão e temperatura de operação como na etapa de extração estática, em que o solvente flui continuamente a vazão constante e o extrato é coletado (JUNCHEN *et al.*, 2019; ARAÚJO *et al.*, 2019; HERBST *et al.*, 2021).

A análise e compreensão dos fenômenos de transporte e cinéticos da SFE pode ser realizada por meio de representação gráfica. Em geral, as curvas da cinética de extração são construídas com a massa acumulada extraída *versus* tempo de extração e pode-se observar três regiões principais, como mostrado na FIGURA 7 (CORREIA *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2019; HERBST *et al.*, 2021).



A primeira região corresponde ao período de extração à taxa constante (*CER – Constant Extraction Rate*), na qual a transferência de massa é predominantemente por convecção. Nesta região, é possível se obter a solubilidade aparente do soluto. A segunda região, período à taxa decrescente de extração (*FER – Falling Extraction Rate*), na qual ocorre tanto difusão como convecção. A terceira região, período de taxa baixa de extração (*DC – Diffusion Controlled*), na qual a transferência de massa ocorre predominantemente por difusão (SOVAVÁ, 2012; CORREIA *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2019; HERBST *et al.*, 2021).

A SFE é uma técnica de extração em que se obtém substâncias voláteis, principalmente terpenóides, e substâncias não voláteis como olerresinas, ácidos graxos e ceras cuticulares. A presença de substâncias não voláteis nos extratos obtidos por SFE é proporcional ao tempo e a pressão de extração (SOVAVÁ, 2012).

O dióxido de carbono (CO₂) é muito utilizado para extração como fluido supercrítico por sua moderada pressão crítica, 7,4 MPa, e baixa temperatura crítica, 31°C. Outras vantagens do uso do CO₂ são: não ter odor e cor, seguro, atóxico e não inflamável. No entanto, segundo Al-Hamimi *et al.* (2016), o CO₂ supercrítico (scCO₂) é um solvente apolar e por isso não é um solvente apropriado para a extração de compostos oxigenados fenólicos e terpenóides. Para superar esta desvantagem pode-se utilizar um cossolvente para aumentar a solubilidade dos analitos em scCO₂ (SILVA *et al.*, 2022; FRANCO-ARNEDO, 2020; LONG, 2019; NDAYISHIMIYE, 2018; OBA, 2017; AL-HAMIMI *et al.*, 2016).

Mira *et al.* (1999) realizaram estudo com cascas de laranja e encontraram que as melhores condições operacionais para extrair d-limoneno com pureza superior a 99,5% são de 12,5 MPa e 35°C. Atti-Santos *et al.* (2005) compararam HD e scCO₂ para obtenção de d-limoneno a partir de cascas de limão e alcançaram rendimento de 5,45% e 7,93%, respectivamente. Yasumoto *et al.* (2015) obtiveram o rendimento de 95% de d-limoneno a partir de extrato de resíduos cítricos a 40 °C e 10 MPa. Jerkovic *et al.* (2015) avaliaram as condições de extração de óleo essencial de cascas de várias espécies de Citrus com scCO₂ e obtiveram rendimento de d-limoneno superior a 53,4% para condições operacionais de 40 °C e 10 MPa.

Ndayishiye *et al.* (2018) realizou extração de cascas de *Citrus junos* com scCO₂ e obteve 1,57% de rendimento a 20 MPa e 45 °C. Lopresto *et al.* (2019) realizaram SFE com scCO₂ nas condições de 40 °C e 15 MPa para extrair óleo essencial rico em d-limoneno de cascas *Citrus limon* e obtiveram rendimento de 3,3% de extrato. Rosa *et al.* (2019) utilizaram SFE com scCO₂ nas condições de 40 °C e 30 MPa para obter extrato rico em ácidos graxos de sementes de *Citrus reticulata Blanco*.

2.4.3.2 Extração com Fluido Subcrítico

Outro solvente que vem sendo estudado para extração de matérias naturais e tem apresentado resultados promissores é o propano subcrítico (scC_3H_8). As principais características do propano são: atóxico, possui pressão crítica de 4,25 MPa e temperatura crítica de 98 °C. Porém, raramente propano é utilizado acima de sua temperatura crítica, devido ao risco de degradação de compostos termolábeis (FETZER *et al.*, 2021; CORREA *et al.*, 2017; CAPUZZO *et al.*, 2013).

Estudos concluíram que o propano comprimido pode ser mais eficaz para obtenção de extratos naturais quando comparado ao scCO_2 , pois é possível alcançar altos rendimentos de extração em condições de pressão mais baixas, quando comparado ao scCO_2 (FETZER *et al.*, 2021; CORREA *et al.*, 2017; CAPUZZO *et al.*, 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA E PREPARO DO RESÍDUO

O resíduo de tangerina ponkan (RP) foi adquirido na região de produtores agrícolas do município de Cerro Azul, PR, Brasil, em julho/2021. A extração do suco foi realizada utilizando extrator de suco (Walita), simulando o processo de extração industrial. Portanto, o resíduo deste primeiro lote (RP1) continha casca, sementes e polpa. O resíduo foi pesado em balança industrial (Filizola BP15) e transportado em saco plástico.

De acordo com Ozturk *et al.* (2019), o RP deve ser secado em estufa a vácuo a 50 °C por 24 h. Golmohammadi *et al.* (2018) utilizaram casca de *Citrus sinensis* para obtenção de óleo essencial e para a etapa de secagem cortou em pedaços de aproximadamente 5 mm e secou em estufa com circulação de ar por 45 °C durante 12 h. Assim, para este estudo o RP1 foi cortado em pedaços de aproximadamente 1 cm² e seco em estufa com circulação de ar, a 50 °C durante 15 horas e armazenado a 4 °C em saco plástico vedado. O RP1 seco foi triturado em moinho de facas tipo Willey.

O óleo OEP está contido majoritariamente nas cascas dos frutos. Por esse motivo, um novo lote de ponkan foi adquirido em julho/2022 de forma a obter um resíduo contendo apenas cascas de ponkan (RP2). O segundo lote de ponkan foi comprado dos mesmos produtores e preparado seguindo a mesma metodologia do RP1, exceto que as cascas foram separadas da polpa e sementes. Para o RP2 não foram realizadas as demais análises de caracterização, apenas hidrodestilação para teor de óleo essencial.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO

3.2.1 Análise Granulométrica

A análise granulométrica dos resíduos foi realizada utilizando um conjunto de série de peneiras Tyler (Bertel Industrial Metalurgia LTDA): 14, 24, 28, 32 *mesh* com agitação manual. Para calcular o diâmetro médio das

partículas, foi utilizada a metodologia de GOMIDE (1983), que utiliza a Equação (1).

$$D = \sum \Delta x_i \cdot D_i \quad (1)$$

Sendo:

D: Diâmetro médio das partículas (mm)

x_i : Fração mássica retida na peneira

D_i : Diâmetro médio de abertura da peneira (mm)

Para todas as extrações foi utilizada a granulometria que englobava a maior parte do material, 28 mesh. Outro fator determinante para a escolha do diâmetro do material foi o diâmetro das tubulações do extrator supercrítico. Para evitar entupimento das válvulas era recomendável não se utilizar material com diâmetro de partícula menor que 0,5 mm. Além disso, partículas muito finas podem causar compactação do leito e aumento da resistência interna da transferência de massa (GOMIDE, 1983).

Para o RP2, não foi realizada a análise granulométrica. Apenas separou-se o material na granulometria de 28 mesh.

3.2.2 Teor de óleo essencial

Neste estudo, a hidrodestilação foi utilizada para quantificar o óleo essencial do RP1, utilizando o aparato Clevenger, segundo a metodologia descrita por Hou *et al.* (2019). Este ensaio foi realizado em triplicata e durante 2 h. Foi utilizado 50 g de resíduo e 500 mL de água destilada. Para este ensaio, foram utilizadas as frações retidas nas peneiras com granulometria de 28 e 35 *mesh*, a fim de verificar se esta variação acarretava em aumento significativo de rendimento de óleo essencial. O destilado foi então coletado e seco com sulfato de sódio - NaSO₄. O óleo essencial obtido foi armazenado em frascos âmbar a - 4 °C para análises futuras.

Em se tratando da extração de OE do RP2, seguiu-se a mesma metodologia realizada para o RP1, porém, utilizou-se apenas a granulometria de 28 *mesh*.

3.2.3 Densidade e Porosidade

A densidade real foi medida por meio de um picnômetro de gás hélio, conforme o manual de operação do picnômetro automático (Quantachrome Ultrapyc 1200e) na Central Analítica do Instituto de Química da UNICAMP/SP. A medida da densidade foi realizada por meio da variação da pressão do gás hélio em uma câmara de determinado volume. Dessa forma, calculou-se o volume real de um sólido. Para o cálculo da densidade aparente (ρ_a) das partículas, utilizou-se a Equação 2, em que m_{leito} é a quantidade de massa de RP1 (g) que preenche o leito de extração e V_{leito} é o volume do leito (cm³) de extração.

$$\rho_a = \frac{m_{leito}}{V_{leito}} \quad (2)$$

A porosidade do leito foi determinada por meio da Equação 3, utilizando a densidade real (ρ_r) (g.cm⁻³) e da densidade aparente (ρ_a) (g.cm⁻³).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (3)$$

3.2.4 Umidade e Matéria Volátil

O teor de umidade foi determinado por meio da secagem das amostras, com base na metodologia descrita por Sluiter *et. al.* (2004) (NREL/TP-510-42621), utilizando a balança infravermelho Shimadzu (Modelo ID200). As análises do resíduo úmido e seco foram conduzidas em triplicata, utilizando aproximadamente 1 g de amostra.

3.2.5 Determinação de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado por meio da incineração das amostras secas a 575 ± 25 °C, com base na metodologia descrita por Sluiter *et. al.* (2004) (NREL/TP-510-42618). A análise foi realizada em triplicata e o teor foi determinado pela Equação (4), na qual $m_{inicial}$ é a massa de RP1 antes da incineração (g) e m_{final} é a massa de resíduo após a incineração (g).

$$U(\%) = \frac{m_{inicial} - m_{final}}{m_{inicial}} \times 100 \quad (4)$$

3.2.6 Determinação de extraíveis totais

A determinação de extraíveis totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Sluiter *et. al.* (2004) (NREL/TP-510-42618). O ensaio consiste em duas extrações Soxhlet, com água destilada, durante 6 h e com o cartucho da primeira extração realizou-se a segunda extração utilizando etanol como solvente durante mais 6 h, para quantificar os extraíveis nas amostras de RP1.

Os extraíveis totais em água e etanol foram quantificados pela Equação 5, em que $m_{extraíveis}$ (g) é a massa de extrato obtido na extração e $m_{amostra}$ (g) é a massa da amostra de resíduo utilizada.

$$Extraíveis\ totais\ (\%) = \frac{m_{extraíveis}}{m_{amostra}} \times 100 \quad (5)$$

3.2.7 Pectina

O teor de pectina presente no RP1 foi determinado com base na metodologia proposta por Colodel *et. al.* (2018), com algumas modificações. O método consiste na extração convencional em meio ácido. A pectina foi extraída da fração seca de RP1 com *mesh* superior a 32, razão sólido-líquido de 1:20 (m/v), utilizando solução aquosa de HNO₃ e pH 2, em ebulição por 2 h.

Após ebulição, a solução foi filtrada para separação dos sólidos, precipitada com etanol (Neon, 99,8% de pureza) 1:3 (v/v), centrifugada (10.000×g) por 20 min e, posteriormente, deixada em repouso a 4 °C durante 12 h. O precipitado foi recuperado por filtração a vácuo e seco em estufa com circulação de ar a 30 °C. O procedimento foi realizado em triplicata.

3.2.8 Lignina insolúvel e solúvel

A quantidade de lignina presente no RP1 foi determinada com base no método proposto por Sluiter *et. al.* (2004) (NREL/TP-510-42618) que quantifica teores de lignina insolúvel em meio ácido (determinado por gravimetria) e lignina solúvel em meio ácido (determinado por espectroscopia no ultravioleta). O método consiste na hidrólise de aproximadamente 0,3 g de amostra em tubos de ensaio com 3 mL de ácido sulfúrico 72% (m/m) por 1h a 30 °C, com agitação constante, utilizando um bastão de vidro a cada 5 a 10 min. Em seguida, o material foi transferido para um frasco de vidro e diluído a 4%, adicionando 84 mL de água destilada. Os frascos foram fechados, homogeneizados e condicionados em autoclave a 121 °C por 1 h, transcorrido o tempo, os frascos foram retirados da autoclave e filtrados à vácuo em cadinhos de Gooch à temperatura ambiente.

Após a filtração, os cadinhos foram novamente secos em estufa, a 105 °C por 12 h, até massa constante. Em seguida, os cadinhos de Gooch foram pesados e a massa do resíduo retido no cadinho foi usada para calcular a porcentagem de lignina insolúvel na amostra em relação à massa seca do material analisado. O cálculo foi realizado pela Equação 6, em que $m_{\text{resíduo}}$ é a massa seca residual retida no cadinho, m_{cinzas} é a massa de cinzas presente no resíduo insolúvel obtida pelo método descrito no Item 3.2.5, e m_{amostra} é a massa inicial de amostra em base seca empregada.

$$LIA(\%) = \frac{m_{\text{resíduo}} - m_{\text{cinzas}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (6)$$

O filtrado foi avolumado em 250 mL e esta fração foi submetida à análise espectrofotométrica no comprimento de onda de 240 nm, para determinação da lignina solúvel em ácido (LSA), realizada de acordo com a Equação 7.

$$LSA(\%) = \frac{UV_{ABS} \times Volume_{filtrado} \times Diluição}{\epsilon_{ml} \times m_{seca} \times CP} \times 100 \quad (7)$$

UVABS é a absorvância em 240 nm, ϵ_{ml} é a absorvância molar da lignina de RP1 neste comprimento de onda (25 L.g-1.cm-1), m_{seca} é a massa seca do material submetido ao ensaio e CP é o comprimento do percurso de leitura da absorvância em cm.

A determinação da lignina total (LT) foi realizada por meio do somatório da lignina solúvel (LSA) e lignina insolúvel (LIA), como mostrado na Equação 8.

$$LT(\%) = LSA(\%) + LIA(\%) \quad (8)$$

3.2.9 Determinação de carboidratos estruturais

A quantidade de carboidratos foi determinada utilizando o hidrolisado obtido na determinação de lignina, com base na metodologia proposta por Sluiter *et. al.*, (2004) (NREL/TP-510-42618).

O conteúdo de carboidratos foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (modelo Shimadzu LC20AD), fornecido com um amostrador automático (modelo SIL 10A), um desgaseificador de fase móvel (modelo DGU 14 A), um aquecedor de coluna (modelo CTO 10A) e detectores nos modelos RID10A para índice de refração e SPD-M10Avp para espectrofotometria ultravioleta. A coluna utilizada foi a Rezex RHM (Phenomenex 300 x 7,8 mm) a 65 °C, precedida por uma pré-coluna Phenomenex (8,0 x 3,2 mm) e eluída com fase móvel de 5 mmol.L⁻¹ de H₂SO₄ a uma vazão de 0,6 mL.min⁻¹. As quantificações foram feitas por padronização, com base em curvas de calibração construídas para cada componente monitorado nas concentrações de 0,08 a 0,8 g.L⁻¹ de celobiose, 0,2 a 2 g.L⁻¹ de glucose, 0,1 a 1 g.L⁻¹ de xilose,

0,08 a 0,8 g.L⁻¹ de arabinose e de 0,1 a 1 g.L⁻¹ de ácido acético. Para os cálculos, foram considerados seus respectivos fatores de hidrólise, convertendo cada componente em seu derivado anidro: 0,95 para a celobiose, 0,90 para glucose, 0,88 para xilose e arabinose, e 0,72 para ácido acético, que são devidos à incorporação de uma molécula de água a cada etapa de hidrólise ácida de uma ligação glicosídica (Sluiter *et. al.*, 2004).

3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE RESÍDUO DE PONKAN

3.3.1 Extração Soxhlet

Extrações com etanol (Neon, 99,8% de pureza), acetato de etila (Neon, 99,5% de pureza), éter de petróleo (Êxodo, 30-60 P.A.), n-hexano (Neon, 99,5% de pureza) e β-pineno (SOCER, 98,5% de pureza) foram realizadas em extrator Soxhlet. Além de quantificar o extrato bruto presentes no RP1 e RP2, quantificar os diferentes compostos (terpenoides, lipídeos, carboidratos, dentre outros) avaliou-se a fração de d-limoneno. Para o RP2, realizou-se extração somente com o solvente n-hexano (Neon, 99,5% de pureza).

O método utilizado foi o proposto por Rashid *et al.* (2013) com algumas modificações propostas por Araújo *et al.* (2019). Para isto, utilizou-se 5 g de resíduo que foram colocados em contato com 150 mL do solvente em ebulição. O experimento foi realizado em triplicata para cada solvente, na pressão atmosférica e o processo de extração foi realizado por 6 horas. A seguir, foi realizada a recuperação do solvente em evaporador rotativo (Labstore Modelo IKA RV 10). O extrato que ficou no balão volumétrico foi colocado em estufa com circulação de ar a 30 °C por 72 h, para garantir a retirada de solvente residual. O extrato foi armazenado em frascos âmbar e foi conservado a -4 °C para análises futuras. O rendimento da extração – em percentagem - foi calculado com base na massa de extrato bruto obtida e da massa total de resíduo utilizado na extração, Equação (9).

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (9)$$

Sendo:

m_{extrato} : Massa de extrato obtido (g)

m_{amostra} : Massa de RP1 utilizada (g)

3.3.2 Extrações Soxhlet sequenciais

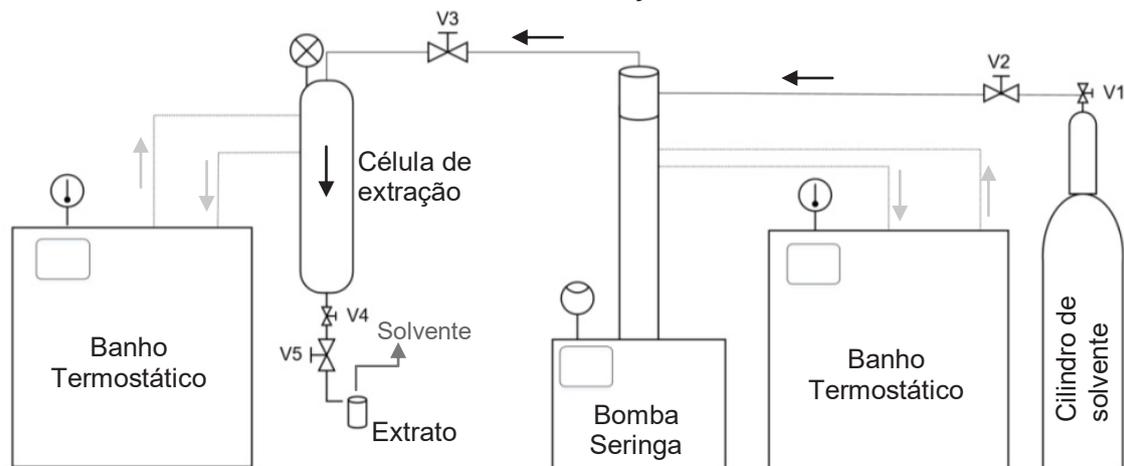
Extrações sequenciais foram realizadas para verificar a possibilidade de obtenção de compostos lipídicos, terpenóides e carboidratos em cada etapa de extração avaliada.

As extrações sequenciais por SE foram realizadas com os solventes etanol e hexano e o resíduo da primeira extração foi utilizado na extração subsequente. Realizou-se a extração com hexano por 6 horas. O resíduo desta foi secado em estufa com circulação de ar a 30 °C por 12 h. Com o resíduo seco foi realizada a segunda extração, porém, o solvente utilizado foi o etanol. O tempo de extração foi mantido, ou seja, pelo período de 6 h. Da mesma forma, foi realizada a extração sequencial utilizando inicialmente o etanol e na sequência o hexano.

3.3.3 Extração com Solventes Pressurizados

Para realizar o procedimento experimental de SFE, utilizou-se um extrator de alta pressão. A unidade experimental continha célula de extração cilíndrica e encamisada de volume interno com 62,4 mL, comprimento de 22 cm e diâmetro interno de 1,9 cm. O extrator teve a pressão controlada por uma bomba seringa de alta pressão (ISCO, modelo 500D), a qual foi mantida a 10 °C por um banho termostático (Spencer). O extrator era equipado com válvulas para controle de fluxo. As extremidades inferior e superior do extrator foram revestidas com algodão para evitar o arraste de partículas sólidas do RP1 para o interior das tubulações. A FIGURA 8 mostra o módulo de extração utilizado.

FIGURA 8 MÓDULO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICO



FONTE: Adaptado de Junchen *et al.* (2019).

Foram utilizados os solventes $scCO_2$ e scC_3H_8 (White Martins S.A., 99,5% de pureza) e como cossolvente, n-hexano (Neon, 99,8% de pureza). Em todos os ensaios foram utilizados 20 g de RP1. A extração estática foi realizada por 30 minutos, em todos os experimentos. A vazão adotada na extração dinâmica foi de $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, este valor foi mantido constante durante toda esta etapa de extração. A extração foi finalizada ao chegar em estado estacionário, em 90 minutos utilizando scC_3H_8 e 180 minutos utilizando $scCO_2$. Outro fator limitante para finalizar a extração foi a capacidade de solvente na bomba, a qual tinha limite mínimo de 80 mL. O extrato obtido foi coletado em tubo de ensaio, previamente pesado e seco, e pesado para cálculo de rendimento. Os extratos obtidos com cossolvente foram secos em estufa com circulação de ar $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h, antes de pesados para obter a curva cinética da extração. Todos os extratos foram armazenados em frascos âmbar sob refrigeração a aproximadamente $-4 \text{ }^\circ\text{C}$.

A fim de determinar os parâmetros do processo de extração, como tempo de extração e a solubilidade aparente da biomassa no solvente utilizado, - estes foram adotados em todas as SE realizadas - construiu-se a curva cinética de extração. A curva foi obtida com a determinação da massa de extrato acumulada obtida em função do tempo de extração dinâmica. Nesta curva foi possível identificar as três regiões de extração: à taxa constante, à taxa decrescente e à taxa baixa de extração. A solubilidade aparente pode ser

definida pela primeira região da curva cinética de extração com o aumento sistemático da taxa de extração (SOVAVÁ, 2012).

3.3.4 Otimização das extrações com solventes pressurizados

Para se obter as condições ótimas da SFE de d-limoneno com $scCO_2$ e com scC_3H_8 um planejamento experimental completo foi utilizado. O rendimento da extração e a fração de d-limoneno foram consideradas como variável resposta. Métodos estatísticos convencionais como ANOVA, gráfico de Pareto e superfícies de resposta foram realizados para investigar os efeitos dos fatores e interações entre eles no rendimento de extrato bruto e na fração de d-limoneno obtida em cada extrato.

O planejamento fatorial para o $scCO_2$ foi do tipo 2^3 que possui um total de 11 experimentos aleatorizados e três pontos centrais. As variáveis consideradas foram a temperatura ($^{\circ}C$), a pressão (MPa) e a razão de RP1:cossolvente (m/m), em dois níveis. A TABELA 3 mostra a matriz do planejamento para SFE com $scCO_2$.

TABELA 3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA SFE COM $scCO_2$

Variável	Código	Nível (-)	Nível (0)	Nível (+)
T	(X1)	40	60	80
P	(X2)	10	15	20
R	(X3)	1:0	1:1	1:2

T: Temperatura, P: Pressão, R: Razão mássica Cossolvente:RP1.

FONTE: A Autora (2022).

O planejamento experimental das extrações com scC_3H_8 avaliou duas variáveis de processo: temperatura ($^{\circ}C$) e pressão (MPa), em dois níveis (X1: 40 – 80 $^{\circ}C$ e X2: 50 – 150 MPa). Este planejamento fatorial é do tipo 2^2 e possui um total de 7 experimentos aleatorizados e três pontos centrais. A TABELA 4 mostra a matriz do planejamento para SFE com scC_3H_8 .

TABELA 4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTO PARA SFE COM scC_3H_8

Variável	Código	Nível (-)	Nível (0)	Nível (+)
T	(X1)	40	60	80
P	(X2)	10	15	20

T: Temperatura, P: Pressão.

FONTE: A Autora, 2022.

3.4 ANÁLISE DOS EXTRATOS OBTIDOS

Para todos os extratos obtidos, foi determinado o rendimento de extrato, a composição química, a fração e a seletividade de d-limoneno. A metodologia adotada é descrita na sequência.

3.4.1 Rendimento de Extração

O rendimento de extrato bruto obtido foi calculado sendo a razão, em porcentagem, de extrato obtido da massa total de resíduo, calculado utilizando a Equação (9), já apresentada no item 3.3.1.

3.4.2 Composição Química dos Extratos e Quantificação de d-limoneno

Para avaliar a composição dos extratos, estes foram analisados por espectrometria de massa por cromatografia gasosa (CG-MS). Esta identificou os compostos presentes e foi possível obter a fração de cada composto por método semiquantitativo. A CG-MS teve como foco a quantificação de d-limoneno.

Os extratos obtidos por hidrodestilação, SE e SFE foram diluídos em hexano grau cromatográfico (Panreac – UV-IR-HPLC). A GC - MS foi realizada na central analítica do Departamento de Química da UFPR. Foi utilizado o cromatógrafo Shimadzu TQ8040 com coluna ZB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) seguindo um método proposto por OZTURK *et al.* (2019) para identificação e quantificação de d-limoneno. O hélio foi usado como gás de arraste em uma taxa de fluxo de 1,2 mL.min⁻¹ e split de 1:60, temperatura de 50 °C a 240 °C em taxa de 5 °C.min⁻¹. A temperatura do injetor e do detector foram mantidas a 240 °C. Os espectros de massa foram obtidos por meio de ionização eletrônica a 70 eV na faixa de m/z 40–300.

Utilizou-se a biblioteca de espectroscopia de massa NIST (National Institute of Standards and Technology) para a identificação dos compostos presentes nos extratos.

3.4.3 Rendimento e seletividade de d-limoneno

Para a quantificação, considerou-se os picos com área mínima de 400.000 ua e calculou-se a fração mássica de cada composto a partir da área de cada pico usando software *CG-MS Postrun*. Com este método semiquantitativo, foi possível comparar e indicar o melhor método de extração e solvente que proporcionou a fração para d-limoneno.

A massa de d-limoneno foi calculada com a percentagem de d-limoneno obtida, a massa de extrato e massa de resíduo, como demonstrado na Equação (10).

$$\text{massa limoneno (g)} = (\text{fração de limoneno}) \times \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{resíduo}}} \quad (10)$$

A seletividade de d-limoneno foi calculada para identificar qual solvente e quais condições de extração foram os mais seletivos para extração de d-limoneno, ainda que em menor rendimento de extrato bruto. Para o cálculo de seletividade de d-limoneno foi necessário calcular o rendimento de cada composto do extrato, como demonstrado na Equação 10. A Equação 12 mostra o cálculo de seletividade de d-limoneno.

$$\text{Seletividade} = \frac{m_{d\text{-limoneno}}}{\sum m_{\text{demais componentes}}} \quad (11)$$

3.4.4 Cálculo de produção de d-limoneno a partir de resíduo de ponkan

Para verificar o método de extração e as condições mais eficientes foi realizado balanço de massa considerando como base de cálculo a produção anual de tangerinas na região do Vale da Ribeira, de 81 mil toneladas. O teor de umidade do RP1 úmido (77%) e seco (8,5%) e a porcentagem de resíduo após a extração do suco (57%) também foram consideradas. Por fim, considerou-se o rendimento das extrações e a fração de d-limoneno utilizadas no cálculo para cada extrato.

$$P_{d\text{-lim}} = P_{\text{tang}} * \frac{m_{d\text{-lim}}}{m_{RP}} * 0,17 \quad (12)$$

Onde:

$P_{d\text{-lim}}$: Produção de d-limoneno (t/ano)

P_{tang} : Produção de tangerinas (t/ano)

$m_{d\text{-lim}}$: massa de d-limoneno extraída (g)

m_{RP} : massa de resíduo de ponkan seco usado na extração (g)

3.4.5 Análise estatística

Para verificar a influência dos fatores temperatura, pressão e razão de cossolvente sobre os rendimentos de extração e de fração de d-limoneno no extrato foi realizada no *software* STATISTICA o gráfico de Pareto e a análise de variância (ANOVA) mostrando o efeito significativo ($p < 0,05$) de cada variável estudada neste processo. Para as extrações com scC_3H_8 foi construída a curva de superfície de resposta para variável de resposta de rendimento de extrato e de fração de d-limoneno com as equações geradas a partir dos efeitos dos fatores calculados pela ANOVA.

De acordo com a metodologia de Barros (2013) foi realizado o teste de Fisher para verificar se o modelo de ajuste dos dados era significativo. Com os graus de liberdade dos fatores de falta de ajuste e de erro puro foi verificado o valor de F (F_{tabelado}) da distribuição de Fisher-Snedecor no nível de 5% de probabilidade. Em seguida fez-se a divisão valor de F calculado pela análise de variância pelo valor F da distribuição de Fisher-Snedecor, e quando o resultado era superior a 1, o modelo era significativo (Equação 13).

$$\frac{F_{\text{calculado}}}{F_{\text{tabelado}}} > 1 \rightarrow \text{modelo de ajuste de dados é significativo} \quad (13)$$

4 RESULTADOS

Neste tópico serão mostrados os resultados do rendimento dos extratos obtidos com os diferentes métodos e solventes em cada uma das condições de temperatura e pressão definidas. Por fim, serão mostrados os resultados de fração de d-limoneno obtidos por CG-MS para cada um dos 18 extratos.

4.1 Aquisição e Preparo da Matéria-Prima

A matéria-prima, 30 kg de frutos, foi adquirida no município de Cerro Azul/PR – Brasil, em julho/2021 *in natura*. O resíduo de tangerina Ponkan (RP1) foi obtido em condições laboratoriais de extração e tinha coloração alaranjada e era composto por cascas, sementes e bagaço da polpa. O aroma era cítrico, característico de tangerinas. A cooperativa de produtores agrícolas da região do Vale da Ribeira, CopaVale, forneceu resíduo da produção industrial de suco de ponkan para testes preliminares, porém em quantidades insuficientes para todo o estudo que seria realizado. O RP1 e o resíduo industrial tinham aspectos semelhantes.

A Figura 9 mostra o RP1 obtido no Laboratório de Cinética e Processos Químicos da UFPR antes da secagem. Este possuía $77,24 \pm 0,55\%$ de umidade. Silva *et al.* (2019) reportou $80,87 \pm 0,71\%$ de umidade em cascas de *Citrus reticulata*.

FIGURA 9 RESÍDUO DE CITRUS RETICULATA BLANCO



FONTE: A Autora (2022).

O RP1 foi submetido ao processo de secagem para redução da umidade. O material foi devidamente espalhado nas bandejas da estufa para que a secagem fosse uniforme. Na sequência o RP1 foi moído com moinho de facas tipo Willey. A moagem foi realizada com pequenas frações de material devido à capacidade do moinho e com o objetivo de não se obter grande quantidade de finos. A Figura 10 mostra o RP1 seco e moído, condições nas quais tinha aspecto granular, coloração alaranjada escura e aroma cítrico.

FIGURA 10 RESÍDUO DE PONKAN SECO E MOÍDO



FONTE: A Autora (2022).

Além das análises visuais do RP1, este foi caracterizado em relação a composição e características físico-químicas.

A matéria-prima para obtenção do RP2, aproximadamente 10 kg de frutos, foi adquirido do mesmo local que o RP1, porém em junho/2022. O preparo do RP2 consistiu em separar as cascas dos frutos, extrair o suco e na sequência separar as sementes da polpa, de forma que foi possível pesar cascas, polpa e sementes separadamente, como mostrado na TABELA 5. Porém, o RP2, utilizado nas extrações de OE e de extrato bruto, era constituído apenas das cascas dos frutos.

TABELA 5 MASSA DOS CONSTITUINTES DOS FRUTOS DE *CITRUS RETICULATA* BLANCO

Parte dos frutos	Massa (g)	Fração mássica
Cascas	2406	0,25
Polpa	2076	0,22
Sementes	180	0,02
Suco	4194	0,44
Perdas	770	0,07
TOTAL	9626	1,00

FONTE: A Autora (2022).

Os dados da TABELA 5 mostram que os frutos de *Citrus reticulata* Blanco são constituídos 45% de suco, 25% de cascas, 22% de polpa e 2% de sementes.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

O resíduo de ponkan (RP1), após o processo de secagem, teve uma redução da umidade de $77,24 \pm 0,55\%$ para $8,53 \pm 0,38\%$, valor dentro do limite máximo de 10% indicado na literatura para prevenir a deterioração do material (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Após a secagem o RP1 foi moído apresentou diâmetro médio de partícula igual a $0,59 \pm 0,01$ mm, de acordo com o perfil de diâmetro de partículas mostrado na Tabela 6.

TABELA 6 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DO RESÍDUO DE PONKAN

Mesh	Massa retida (g)	Fração de massa retida (%)	Diâmetro médio (mm)*
8	-	-	2,006
14	327,88	8,10	1,410
20	364,59	9,01	1,000
28	1638,09	40,47	0,711
35	793,49	19,61	0,503
Fundo	923,33	22,81	-

FONTE: A Autora (2022).

Para a extração por hidrodestilação foi utilizado a granulometria de 28 e de 32 *mesh* a fim de verificar se haveria diferença de rendimento de óleo essencial, o que não aconteceu. Não foi quantificado a fração de d-limoneno para todas as granulometrias obtidas. Dessa forma definiu-se que se utilizaria somente o diâmetro de partícula de 28 *mesh* para a continuidade do estudo.

Este diâmetro foi selecionado, pois englobava a maior parte do material, 40,47%, e considerava as restrições do extrator com fluido supercrítico, no qual era recomendável se utilizar diâmetro de partícula acima 0,5 mm para evitar entupimento das tubulações. Dessa forma, foi possível utilizar um único diâmetro de partícula o que permitiu a comparação dos resultados das diferentes extrações realizadas e extratos obtidos, já que a transferência de massa e a difusão do processo de extração poderiam ser afetadas com a variação do diâmetro de partícula.

A composição do RP1 é mostrada na Tabela 7. Todos os parâmetros foram medidos após a secagem e moagem do resíduo. As análises de caracterização não foram realizadas para o RP2, pois o objetivo deste era verificar a diferença de rendimento de extrato e de fração de d-limoneno em relação ao RP1.

TABELA 7 ANÁLISES DO RESÍDUO DE PONKAN

Parâmetro	Teor (%)
Cinzas	1,59 ± 0,05
Extraíveis em água	53,88 ± 0,67
Extraíveis em etanol	4,02 ± 0,62
Umidade	8,53 ± 0,38
Pectina	4,30 ± 0,04
Lignina Solúvel	15,81 ± 0,98
Lignina Insolúvel	5,93 ± 0,09
Glucose	11,10 ± 0,06
Xilose	6,19 ± 0,24
Arabiose	5,61 ± 0,09

FONTE: A Autora (2022).

A densidade real do RP1 foi de $1,53 \pm 0,01 \text{ g.cm}^{-3}$, densidade aparente de $0,434 \pm 0,002 \text{ g.mL}^{-1}$ e a porosidade de $0,716 \pm 0,001$. O RP1 como contem cascas, sementes e polpa, apresentou teor de cinzas quantificado em 1,59%. Este resultado está em conformidade com a literatura que reporta teor de 1,50 a 3,5%. Silva *et al.* (2019) encontraram teor de cinzas em cascas de *Citrus reticulata* de $2,2 \pm 0,47\%$, enquanto Oliveira *et al.* (2022) $1,54 \pm 0,47\%$ e Sandhu *et al.* (2012), $3,52 \pm 0,19\%$ de cinzas. Isto indica, como esperado, que a maior composição do resíduo é de cascas, o que permite a obtenção de extratos ricos em d-limoneno, visto que este é obtido das cascas do fruto.

O RP1 é rico em extraíveis totais em água e etanol (57,90%), o que pode dificultar a separação do extrato do solvente quando a extração é realizada com solventes polares. A pectina (4,30%) além de prejudicar a separação do extrato, pode ainda provocar entupimento das tubulações do extrator supercrítico. Pois na extração prévia da pectina pode haver perda de óleo essencial e extrato bruto. Esta hipótese foi confirmada com o estudo de extração sequencial (item 4.3.2).

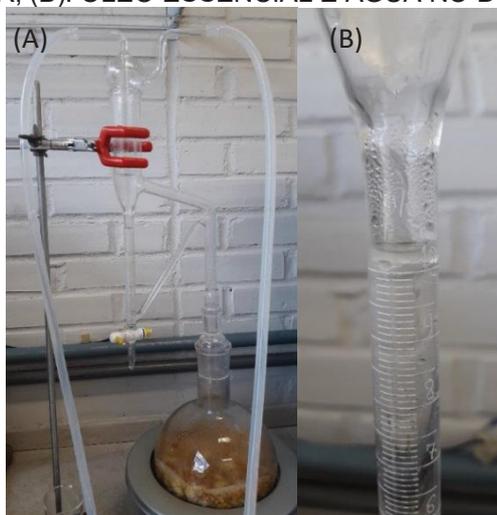
Neste estudo foram realizadas extrações com etanol e extrações sequenciais de forma a avaliar a interferência da pectina na extração de d-

limoneno. O alto teor de lignina, 21,74%, e carboidratos, 22,90%, indica que as extrações devem utilizar solventes de baixa polaridade.

Sandhu *et al.* (2012) encontraram a seguinte composição em cascas de *Citrus reticulata*: $22.88 \pm 1.24\%$ de pectina, $29.66 \pm 1.48\%$ de extraíveis em etanol, $1.91 \pm 0.15\%$ de lignina insolúvel. Neste estudo esperavam-se teores diferentes, pois se trata de resíduo composto por cascas, sementes e polpa e parte da pectina (4,30%) e carboidratos (4,02%) foi incorporada ao suco obtido no processamento deste. A maior concentração de lignina (5,93%) provavelmente é em função da presença de sementes no resíduo.

A quantidade de óleo essencial (OE) presente no RP1 foi quantificada. O óleo essencial do RP1 foi extraído por hidrodestilação. A FIGURA 11 mostra o aparato de Clevenger utilizado na hidrodestilação (A) e o óleo obtido (B). A extração ocorreu por 2 h. Devido ao pequeno volume de extrato obtido, pois o RP1 contém baixo teor de óleo essencial, houve dificuldade na manipulação do OE e alguns ensaios tiveram que ser repetidos para que fosse possível obter esta análise em triplicata.

FIGURA 11 - HIDRODESTILAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN – (A): APARATO CLEVANGER, (B): ÓLEO ESSENCIAL E ÁGUA NO DECANTADOR



FONTE: A Autora (2022).

Visando melhorar o rendimento da hidrodestilação esta foi otimizada com a realização de ensaios em diferentes faixas granulométricas, pois segundo Fetzer *et al.* (2019) e Xiong e Chen (2020) o diâmetro da partícula interfere na transferência de massa e difusão da extração, porém neste estudo

não se observou resultados diferentes de rendimento (TABELA 8) com a variação da faixa granulométrica testada.

TABELA 8 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE RESÍDUO DE PONKAN POR HIDRODESTILAÇÃO EM DUAS FAIXAS GRANULOMÉTRICAS

Amostra	M _{RP} (g)	V _{água} (mL)	M _{OE} (g)	V _{OE} (mL)	Rend. OE (%)
28 mesh - RP1	50,08 ± 0,07	500	0,11	0,2	0,3990 ± 0,0005
32 mesh - RP1	50,14 ± 0,20	500	0,11	0,2	0,399 ± 0,002
28 mesh - RP2	50,24 ± 0,34	500	0,83	1,5	2,97 ± 0,20

M_{RP}: massa de resíduo de ponkan, V_{água}: volume de água, M_{OE}: massa de óleo essencial, V_{OE}: volume de óleo essencial, Rend.: rendimento de óleo essencial.

FONTE: A Autora (2022).

Para o RP1 obteve-se rendimento de óleo essencial de 0,4% em base seca, o qual foi inferior ao obtido em outros estudos que se utilizava apenas a casca do fruto, de 1,5% em base seca após extração durante 2 h (SHARMA E VASHIST, 2015). Utilizando-se apenas as cascas (RP2) obteve-se rendimento de 2,9% em base seca, o que era esperado de acordo com Hou *et al.* (2019) que obteve 3,1% de OE com 2 h de extração e diâmetro de partícula entre 20 e 30 mesh.

Realizou-se análise de CG-MS em amostras de óleo essencial de RP1 e RP2 obtidos com granulometria de 28 mesh. A TABELA 9 mostra a fração dos principais compostos obtidos nos extratos.

TABELA 9 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL OBTIDO PARA OS DIFERENTES TIPOS DE RESÍDUOS AVALIADOS

Composto	% de compostos do óleo essencial do RP1	% de compostos do óleo essencial do RP2
β-pineno	-	0,42
β-mirceno	-	1,92
d-limoneno	87,65	90,27
γ-terpineno	9,18	7,05
Careno	0,51	-
Linalool	1,84	0,34
Seletividade para d-limoneno	7,10	9,28

FONTE: A Autora (2022).

Pode-se observar que o óleo essencial obtido do RP2 contém em sua composição mais compostos terpênicos e maior quantidade de d-limoneno.

Este resultado era esperado já que as glândulas de óleo essencial estão localizadas na casca do fruto. Contudo a quantidade de d-limoneno presente no RP1 é elevada, 87,65%.

Isto evidencia o potencial do RP1 para a geração de outros produtos de interesse da sociedade. A extração por hidrodestilação já permitiria agregar valor ao resíduo, pois o extrato obtido poderia ser comercializado como óleo essencial para uso na indústria alimentícia ou de produtos de higiene pessoal, porém o mesmo não seria indicado para uso em aromaterapia por não possuir a mesma composição da casca da ponkan. Mas por ser um resíduo o uso do extrato do resíduo de ponkan seria indicado com segurança para obtenção de d-limoneno para ser utilizado em diferentes sínteses químicas. E para tal outros métodos de extração e solventes mais seletivos podem ser utilizados para melhorar a rendimento em d-limoneno.

4.3 Extratos de Resíduo de Ponkan Obtidos por Diferentes Métodos de Extração

4.3.1 Extração Soxhlet

Além de óleo essencial é possível obter extratos vegetais do RP1. Dessa forma, realizou-se a SE, obtendo-se extrato por exaustão do RP1. As vantagens desse processo é que todo o extrato pode ser obtido em função do número de ciclos, que é variável.

De acordo com Yang *et al.* (2021) a principal desvantagem da utilização desta técnica é o consumo de solventes orgânicos e inevitável geração de resíduos tóxicos. Neste estudo foram utilizados solventes polares e apolares a fim de observar a solubilidade do extrato nos mesmos: água, etanol, acetato de etila, β -pineno e hexano. Nesta etapa utilizou-se a granulometria do resíduo de 28 *mesh*.

A FIGURA 12 mostra a extração com solvente por refluxo do RP1 e a TABELA 10 mostra os solventes utilizados e seus respectivos rendimentos.

FIGURA 12 EXTRAÇÃO COM SOLVENTE POR REFLUXO DO RP1



FONTE: A Autora (2022).

TABELA 10 RESULTADOS DO ESTUDO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO RESÍDUO DE PONKAN EM SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES

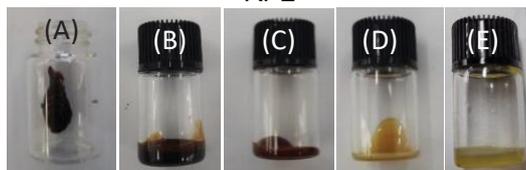
Solvente	Índice ¹ de Polaridade	RP (g)	Rendimento de extrato (%)	Fração de d-limoneno (%)	Aspecto
Extrações com solvente utilizando o RP1					
Água	10,2	5,04 ± 0,04	53,77 ± 2,06	Não analisado	Sólido escuro
Etanol	5,2	5,01 ± 0,01	53,99 ± 0,39	Não analisado	Sólido escuro
Acetato de etila	4,3	5,12 ± 0,14	5,33 ± 0,23	Não analisado	Sólido laranja
β-pineno	Polar	5,06 ± 0,03	Não obtido	Não analisado	-
Hexano	0,0	5,05 ± 0,04	1,94 ± 0,04	44,83	Óleo laranja
Extrações com solvente utilizando RP2					
Hexano	0,0	5,05 ± 0,04	1,72 ± 0,05	71,57	Óleo laranja

FONTE: ¹ A Autora, 2022.

O alto rendimento obtido quando se utilizou água e etanol, $53,77 \pm 2,06$ % e $54,99 \pm 0,39$ %, respectivamente, pode ser explicado devido ao teor de pectina e carboidratos contidos no RP1, $4,30 \pm 0,04$ % e $22,90 \pm 0,39$ %. De acordo com Colodel *et al.* (2016) o RP1 possui teor de pectina de 25,6%, que é um composto solúvel em água e etanol, solventes utilizados na extração.

Além da pectina e dos carboidratos, o resíduo continha lignina, $15,81 \pm 0,98$ % (TABELA 7). Observou-se nos extratos obtidos com água, etanol e acetato de etila a formação de precipitado após a recuperação do solvente (FIGURA 13). A formação do deste precipitado provavelmente ocorreu pelo fato dos solventes serem polares, pois o RP1 continha compostos com afinidade a estes solventes, como pectina, carboidratos e lignina.

FIGURA 13 EXTRATOS OBTIDOS POR EXTRAÇÃO SOHXLET A PARTIR DO RP1 COM OS SOLVENTES: (A) ÁGUA, (B) ETANOL, (C) ACETATO DE ETILA, (D) HEXANO, (E) HEXANO - RP2



FONTE: A Autora (2022).

Na extração com β -pineno o vapor gerado condensava antes de entrar em contato com a amostra e para manter o extrator na temperatura de ebulição foi necessário utilizar isolamento térmico no Soxhlet. Isto ocorreu devido ao alto ponto de ebulição desse solvente, 164 °C. A recuperação deste solvente foi realizada no próprio Soxhlet com um ciclo adicional, porém sem a utilização do cartucho com a amostra. Contudo não foi possível separar todo o solvente sendo possível visualizar parte do solvente com extrato bruto. Para os demais solventes a recuperação foi realizada em rotaevaporador.

De acordo com SIMAS *et al.* (2015) e KWANGJAI *et al.* (2020) o β -pineno é um dos componentes do óleo essencial (ou extrato) de ponkan, assim esperava-se que o d-limoneno se solubilizasse com facilidade neste solvente. Contudo a realização desta extração apresentou problemas operacionais e não foi possível obter o extrato. Desta forma a possível vantagem de utilizar o β -pineno como solvente não pode ser comprovada.

O hexano foi o solvente que solubilizou maior quantidade de compostos terpênicos e ácidos graxos e observou-se que o extrato obtido tinha aspecto oleoso. Porém, os OE não possuem aspecto aquoso, portanto esta extração pode ter obtido extrato contendo triglicerídeos presentes nas sementes do RP1. Não se observou aumento no rendimento quando se utilizou o RP2 (1,72%) em relação ao RP1 (1,94%), o que era esperado, pois segundo Rosa *et al.* (2019) os ácidos graxos estão presentes nas sementes além das cascas.

Segundo Lopresto (2014) os compostos terpênicos estão localizados nas glândulas das cascas de Citrus, o que indica que a maior fração de d-limoneno seria obtida a partir da extração realizada com o RP2. Esta hipótese foi confirmada, os resultados mostraram 71,57% de d-limoneno no RP2 e 44,83% no RP1.

4.3.2 Extração Soxhlet sequencial

Extrações Soxhlet sequenciais foram realizadas a fim de otimizar a obtenção de d-limoneno e ainda obter outros compostos. Segundo Kim *et al.* (2022) e Yadav *et al.* (2022) é possível se obter sequencialmente OE, extratos vegetais e carboidratos (como pectina, hemicelulose, celulose e açúcares), a partir de resíduos de frutos cítricos. Os resultados obtidos na extração sequencial com os solventes hexano e etanol indicam confirmação desta hipótese. A Tabela 11 mostra os resultados obtidos.

TABELA 11 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS COM SOLVENTES POR REFLUXO

Ensaio	RP1 (g)	Rendimento (%) da 1ª extração	Rendimento (%) da 2ª extração	Rendimento global (%)
1-Etanol	5,011 ± 0,006	53,994 ± 0,393	0,259 ± 0,035	54,2 ± 0,4
2- Hexano				
3- Hexano	5,054 ± 0,025	1,940 ± 0,037	58,8 ± 1,2	52,1 ± 1,5
4 - Etanol				

FONTE: A Autora (2022).

Pode-se observar no ensaio 1 que após a extração com etanol obteve-se rendimento de 53,99 ± 0,39% e na sequencial, ensaio 2, com a extração com hexano utilizando o resíduo da extração com etanol, a quantidade de extrato foi desprezível, 0,25 ± 0,03%. Já na extração sequencial do ensaio 3, que se iniciava com o hexano, foi possível obter rendimento de 1,94 ± 0,04% e após, com a extração em etanol a partir do resíduo da extração em hexano, foi possível obter ainda extraíveis em etanol.

Contudo a sequência no uso dos solventes é importante para se obter diferentes produtos visando agregar valor ao resíduo, além de se obter o máximo rendimento em cada extração.

4.3.3 Extração com solventes pressurizados

Extrações com solventes pressurizados, scCO₂ e scC₃H₈, foram realizadas para investigar a possibilidade dos mesmos para a extração de d-limoneno. Também se avaliou o uso do n-hexano como cossolvente. Ensaios

preliminares com diferentes condições de pressão e temperatura foram realizados para verificar a obtenção de extrato, como mostrado na TABELA 12.

TABELA 12 EXTRAÇÕES PRELIMINARES COM SOLVENTES PRESSURIZADOS

Ensaio	Solvente	T (°C)	P (MPa)	ρ_{solv} (g.mL ⁻¹)	t (min)	R _{extrato} (%)	Fração de d-limoneno (%)
1	scCO ₂	60	15	0,60	30	0,0	0,0
2 ¹	scCO ₂ -hexano	60	15	0,60	150	1,49	76,29
3	scC ₃ H ₈	60	10	0,47	90	1,13	86,63
4	scC ₃ H ₈	30	10	0,51	90	1,03	*

T: Temperatura, P: Pressão, ρ_{solv} : densidade do solvente, R_{extrato}: Rendimento de extrato

¹Ensaio realizado com razão mássica de cossolvente: resíduo 1:1; *Análise realizada em outras condições das demais análises do estudo.

FONTE: A Autora (2022).

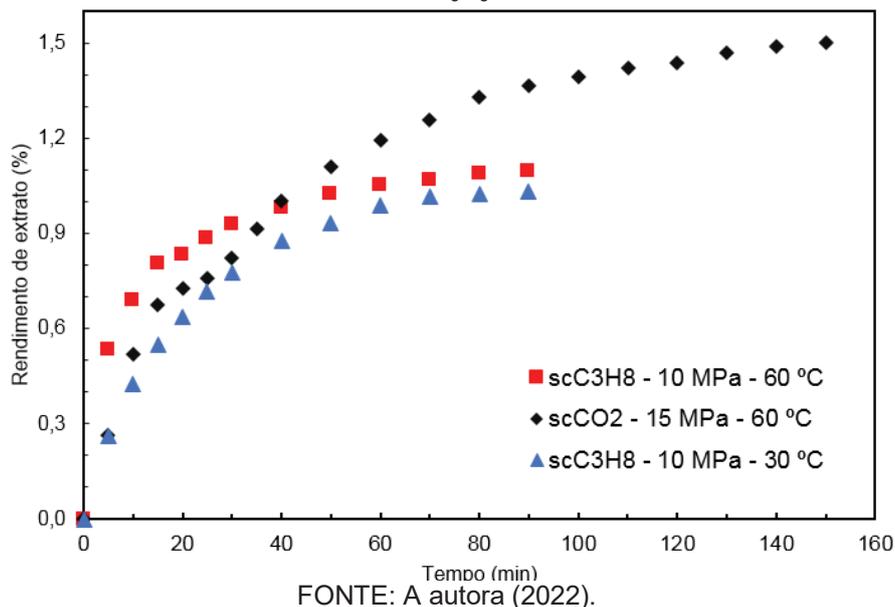
Utilizando apenas scCO₂ não foi obtido extrato, enquanto que o uso do hexano como cossolvente resultou em 1,49% de extrato, valor inferior do que na SE, que foi de 1,94%. Quando se utilizou scC₃H₈ não foi necessário utilizar cossolvente pois houve obtenção de extrato e se observou que o aumento da temperatura acarretou em aumento de extrato, de 0,89% para 1,13%.

As extrações com scC₃H₈ foram realizadas devido o resultado da extração SE com o solvente β -pineno ter obtido extrato bruto, mas sem a separação do solvente. Ambos solventes, scC₃H₈ e β -pineno pertencerem a mesma classe de compostos, hidrocarbonetos, optou-se por realizar ensaios preliminares com scC₃H₈ em condições subcríticas.

A maior fração de d-limoneno obtida nos ensaios preliminares com solventes pressurizados foi de 86,63%, com scC₃H₈ a 60 °C e 10 MPa. Observou-se nos ensaios preliminares que utilizaram scC₃H₈ como solvente que o aumento da temperatura favorece a obtenção de d-limoneno.

A Figura 14 mostra a curva cinética dos ensaios 2 a 4. Pode-se observar em todas as curvas as 3 regiões de extração descritas no item 2.4.3, quando se realizou o cálculo da diferença de rendimento ponto a ponto. Para as extrações realizadas com scC₃H₈ a região CER (extração a taxa constante) foi de 0 a 15 min, FER (extração a taxa decrescente) de 15 a 50 min e DC (extração a baixa taxa) de 50 a 90 min. Para as extrações realizadas com scCO₂ a região CER foi de 0 a 35 min, FER, de 35 a 90 min e DC, de 90 a 150 min.

FIGURA 14 ENSAIOS PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO COM OS SOLVENTES $scCO_2$ E scC_3H_8



A partir destes ensaios preliminares foi definido o planejamento experimental com o objetivo de otimizar o rendimento de extrato e a fração de d-limoneno. O tempo de extração para cada solvente foi definido em 150 min para $scCO_2$ e de 90 min para scC_3H_8 .

4.3.3.1 Otimização das Extrações com $scCO_2$

Para a otimização da quantidade de d-limoneno que pode ser extraída foi realizado um planejamento fatorial e os resultados obtidos são mostrados na TABELA 13. Os rendimentos de extrato bruto e de fração de d-limoneno foram obtidos nas extrações usando $scCO_2$ e $scCO_2$ -hexano, nas diferentes condições experimentais de pressão, temperatura e razão mássica de hexano para RP1, com tempo de confinamento de 30 min e vazão de $scCO_2$ de $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

TABELA 13 CONDIÇÕES E RESULTADOS EXPERIMENTAIS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN USANDO SCCO₂ E SCCO₂-HEXANO

Ensaio	Razão RP1:Hexano	T (°C)	P (MPa)	ρ CO ₂ (g.mL ⁻¹)	RP1 (g)	Massa de hexano (g)	Rend. de extrato (%)	Fração de d- limoneno (%)	Seletividade de d-limoneno (%)
1	1:2	40	10	0,63	20,0578	40,5620	1,41	76,26	2,35
2	1:2	80	10	0,22	20,5060	40,9700	1,69	77,70	3,20
3	1:2	40	20	0,83	20,1858	40,2068	1,41	65,05	2,11
4	1:2	80	20	0,59	20,0801	40,9520	1,61	74,23	2,89
5	0:1	40	10	0,63	20,0518	-	0,60	0,00	0,00
6	0:1	80	10	0,22	20,0526	-	0,0	0,00	0,00
7	0:1	40	20	0,83	20,0258	-	1,29	81,63	4,44
8	0:1	80	20	0,59	20,1399	-	1,50	89,01	8,10
9	1:1	60	15	0,60	19,9620	20,2700	1,50	76,29	3,22
10	1:1	60	15	0,60	20,0046	20,0910	1,47	79,20	3,81
11	1:1	60	15	0,60	20,1840	21,1400	1,51	-	-

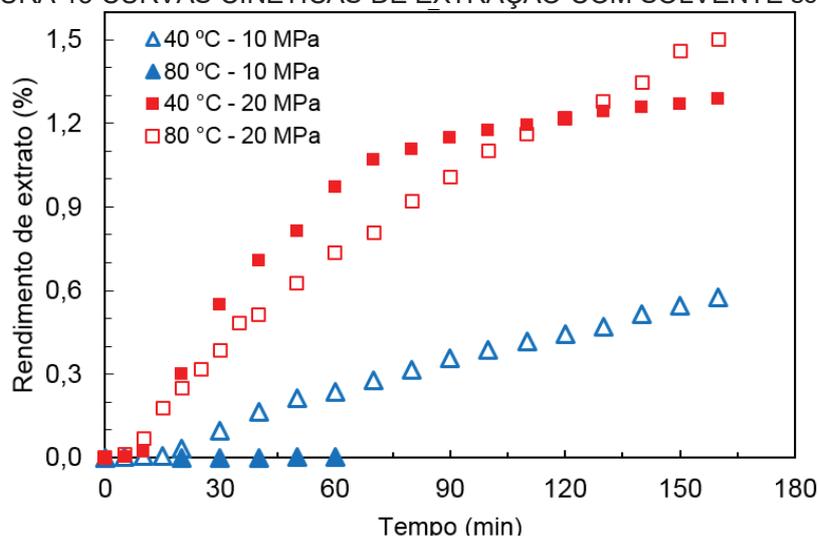
FONTE: A Autora (2022).

A maior fração de d-limoneno obtida foi de 89,01%, utilizando apenas scCO₂ na condição de 80 °C, 20 MPa e sem cossolvente. De acordo com Capuzzo *et al.* (2013), com o aumento da pressão a temperatura constante ocorre o aumento da densidade o que pode aumentar a solubilidade de compostos mais densos e consequentemente aumentar o rendimento de extrato. Porém como a maior parte do RP1 era de cascas e faixa de pressão utilizada foi de 10 a 20 MPa, os extratos obtidos continham maior fração de compostos voláteis, componentes do óleo essencial.

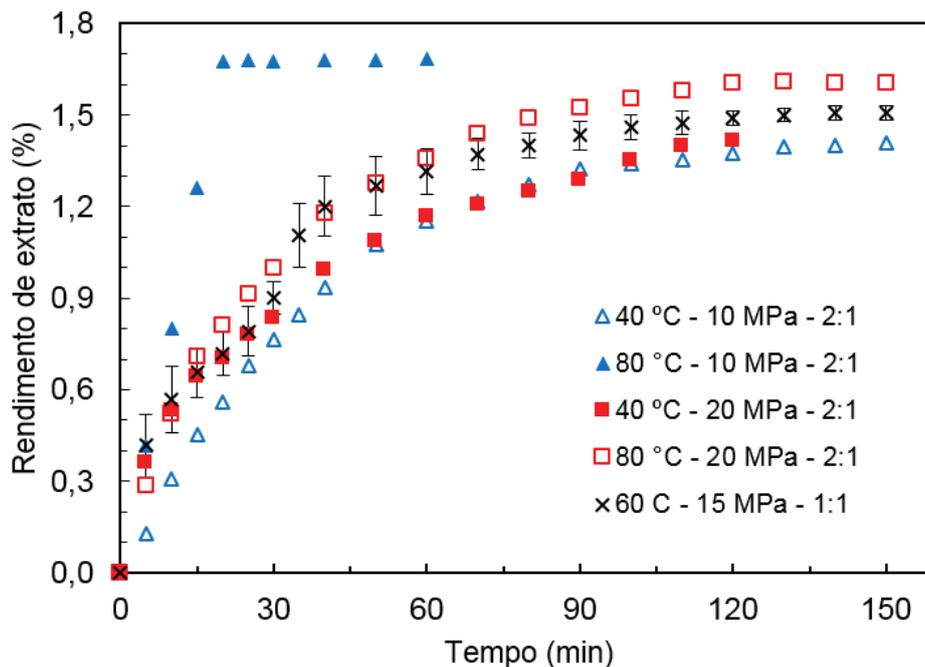
O maior rendimento de extrato obtido utilizando o solvente scCO₂ foi de 1,61%, usando scCO₂-hexano, razão mássica RP1:hexano de 1:2, 80 °C e 10 MPa (ensaio 2). Em comparação com a extração usando apenas scCO₂ (ensaio 6) foi a maior variação de rendimento entre extrações com e sem hexano nas mesmas condições de temperatura e pressão. Esse resultado representa aumento de 100% já que nessa condição e sem cossolvente não houve obtenção de extrato. Isto pode ser explicado devido a densidade do CO₂ ser muito baixa nas condições do ensaio 6, 0,22 g.mL⁻¹.

As curvas cinéticas de extração com scCO₂ foram construídas para proporcionar a melhor compreensão da influência do solvente e o cossolvente e as condições de temperatura e pressão no rendimento das extrações. A FIGURA 15 mostra a curva obtida sem uso de cossolvente e a FIGURA 16, com cossolvente, ambas com tempo de confinamento de 30 min, vazão de scCO₂ de 2 mL.min⁻¹ e nas mesmas condições de temperatura e pressão.

FIGURA 15 CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTE scCO₂



FONTE: A Autora (2022).

FIGURA 16 CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTE scCO₂-HEXANO

FONTE: A Autora (2022).

Segundo Fetzer *et al.* (2019) a pressão é a condição, além da razão de cossolvente, que mais influencia no rendimento da extração já que a densidade e o poder de solvatação do CO₂ dependem da pressão. Pode ser observado na FIGURA 15 que com o aumento da pressão de 10 MPa para 20 MPa houve aumento no rendimento da extração de 0,0% para 1,5% na temperatura de 80 °C e de 0,60% para 1,29% na temperatura de 40 °C.

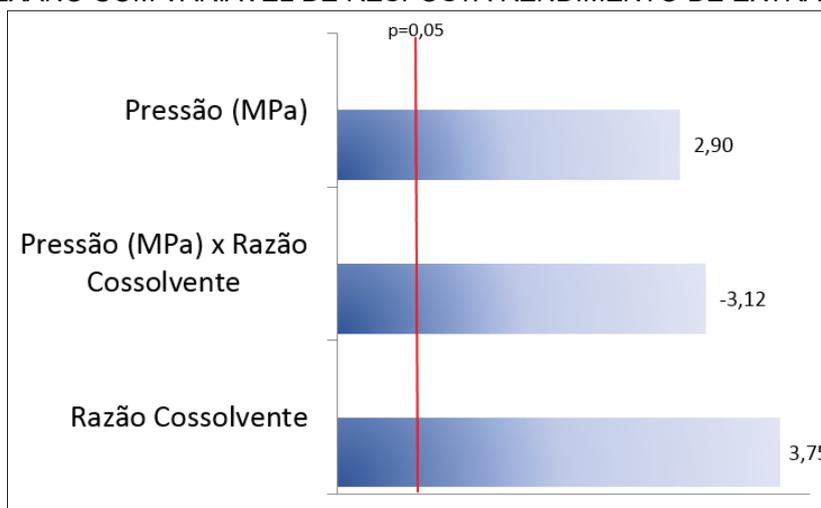
De acordo com Araújo *et al.* (2019) e Fetzer *et al.* (2019) a influência da temperatura depende de cada sistema, pois com o aumento da temperatura há aumento da pressão de vapor e diminuição da densidade. O aumento da pressão de vapor acarreta no aumento da solubilidade do CO₂, porém a diminuição da densidade, na diminuição da solubilidade. Logo, o efeito predominante depende da magnitude de cada variável e do sistema em estudo. Este efeito pode ser observado na FIGURA 15. A diminuição da temperatura de 80 °C para 40 °C, a 20 MPa, ocasionou o aumento da densidade de 0,59 g.mL⁻¹ para 0,83 g.mL⁻¹. Porém, de acordo com Sovavá (2012) a solubilidade aparente pode ser verificada com a inclinação da curva cinética na região de taxa constante. Dessa forma, pode-se verificar a diminuição da solubilidade do extrato no scCO₂ e, conseqüentemente, a extração a 20 MPa e 80 °C ocorreu de forma mais lenta que a 40 °C, mas obteve rendimento global de extração

maior, 1,50% e 1,29% respectivamente, o que indica que o scCO₂ está atuando apenas como carreador do extrato.

A Figura 16 mostra que com o uso de hexano como cossolvente a extração é mais rápida que sem cossolvente. Em 150 min e sem cossolvente não foi possível atingir a região da cinética de baixa taxa enquanto que com cossolvente foi possível e na condição de 80 °C e 10 MPa a extração atingiu a região de baixa taxa em aproximadamente 20 min. Além disso, com cossolvente obteve-se rendimentos similares que sem cossolvente porém na menor condição de pressão, 10 MPa. Observa-se também que com cossolvente a condição de menor densidade foi a que se obteve maior rendimento. Isso pode ser explicado devido a solvatação do scCO₂ no hexano, que permitiu maior solubilidade de extrato neste cossolvente.

De forma geral, os dados da TABELA 13 indicam aumento no rendimento da extração com o aumento da razão mássica de hexano: RP1. Para confirmar esta influência sobre os rendimentos de extração foi construído o gráfico de Pareto (FIGURA 17) mostrando o efeito significativo ($p < 0,05$) de cada variável estudada neste processo. A TABELA 14 mostra a análise de variância do sistema, que corrobora com os efeitos verificados no gráfico de Pareto.

FIGURA 17 - INFLUÊNCIA DE FATORES PARA AS EXTRAÇÕES COM scCO₂ E scCO₂-HEXANO COM VARIÁVEL DE RESPOSTA RENDIMENTO DE EXTRATO



FONTE: A Autora (2022).

TABELA 14 ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM scCO₂ E scCO₂-HEXANO E VARIÁVEL DE RESPOSTA RENDIMENTO DE EXTRATO

Fator	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F _{calculado}	p
P (MPa)	0,556512	1	0,556512	8,38615	0,023121
Razão RP1:Hexano	0,931613	1	0,931613	14,03858	0,007198
Razão RP1:Hexano x P (MPa)	0,644112	1	0,644112	9,70621	0,016951
Erro	0,464526	7	0,000433		
Total	2,596764	10			

*R² = 0,82111, Ajuste = 0,74445, Média quadrática residual = 0,0663609, F_{tabelado} = 4,35

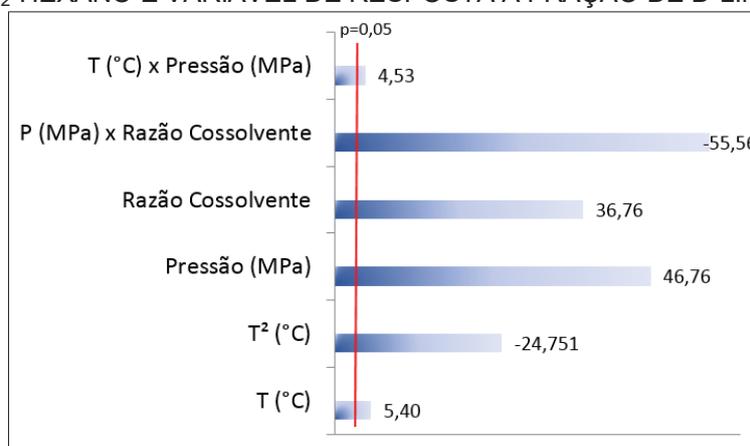
FONTE: A autora (2022).

O gráfico de Pareto, quando a resposta analisada foi o rendimento de extrato (FIGURA 17), mostrou que a variável de maior efeito no sistema foi a razão mássica cossolvente: RP1. A pressão do sistema possui efeito positivo sobre o rendimento da extração, porém não é tão significativo quanto a razão cossolvente: RP1. Já a temperatura não causou efeito significativo no sistema.

A análise variância mostrada na TABELA 14 corrobora com os resultados do gráfico de Pareto. É possível verificar ainda através dos valores de F_{calculado} e F_{tabelado} que o modelo de ajuste dos dados é significativo.

Para a análise estatística da fração de d-limoneno, o gráfico de Pareto (FIGURA 18) e a análise de variância (TABELA 15) mostraram que a pressão é o fator de maior efeito positivo na obtenção de d-limoneno, seguido pela razão de cossolvente. A temperatura não teve efeito significativo na obtenção de d-limoneno. Dessa forma, a fim de maximizar a fração de d-limoneno deve-se priorizar a escolha da pressão.

FIGURA 18 - INFLUÊNCIA DE FATORES PARA AS EXTRAÇÕES REALIZADAS COM scCO₂ E scCO₂-HEXANO E VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO



FONTE: A Autora (2022).

TABELA 15 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA ANOVA PARA EXTRAÇÕES REALIZADAS COM scCO₂ E scCO₂-HEXANO COM VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO

Fator	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F	p
T (°C)	40,50	1	40,50	29,124	0,005705
T ² (°C)	851,91	1	851,91	612,613	0,000016
P (MPa)	3040,44	1	3040,44	2186,404	0,000001
Razão RP1:Hexano	1878,85	1	1878,85	1351,092	0,000003
T (°C) x P (MPa)	28,58	1	28,58	20,550	0,010552
P (MPa) x Razão RP1:Hexano	4292,94	1	4292,94	3087,084	0,000001
Erro	5,56	4	1,391		
Total	10138,77	10			

R² = 0,99945; Ajuste = 0,99863; Média Quadrática residual = 1,390613; F_{tabelado} = 6,16

FONTE: A Autora (2022).

A análise variância mostrada na TABELA 15 corrobora com os resultados do gráfico de Pareto e é possível verificar através dos valores de F_{calculado} e F_{tabelado} que o modelo de ajuste dos dados é significativo.

4.3.3.2 Otimização das Extrações com scC₃H₈

Os resultados das extrações utilizando scC₃H₈ são mostrados na TABELA 16. A FIGURA 19 mostra as curvas cinéticas de extração usando scC₃H₈. Para estudar o impacto da pressão e temperatura no rendimento de extração as seguintes condições foram fixadas durante todo o planejamento experimental: tempo de extração estática de 30 min, vazão de solvente de 2 mL.min⁻¹, ou seja, as mesmas condições adotadas para o planejamento experimental com scCO₂.

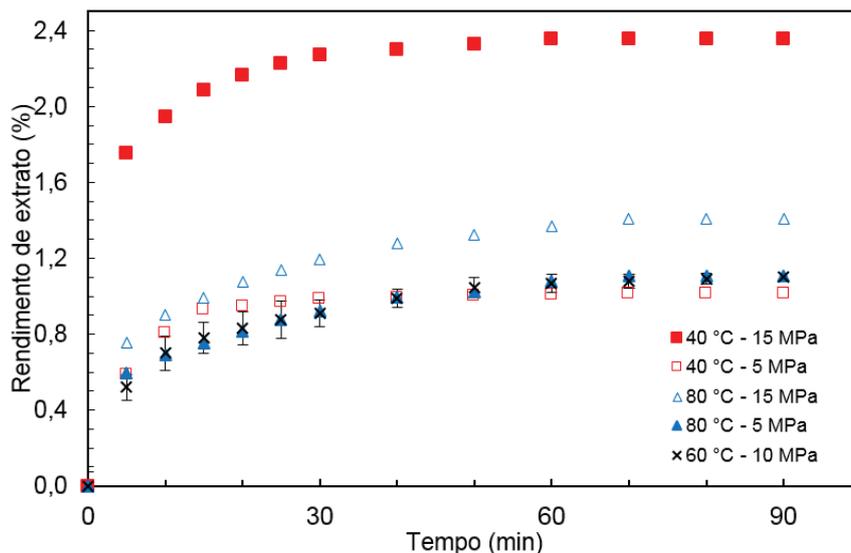
TABELA 16 CONDIÇÕES E RESULTADOS EXPERIMENTAIS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUO DE PONKAN USANDO scC₃H₈

Ensaio	T (°C)	P (MPa)	ρ C ₃ H ₈ (g.mL ⁻¹)	Rend. de extrato (%)	Fração de d-limoneno (%)	Seletividade de d-limoneno (%)
1	40	5	0,48	1,02	62,74	1,68
2	80	5	0,40	1,11	57,46	1,35
3	40	15	0,51	2,35	89,38	8,42
4	80	15	0,46	1,41	58,22	1,39
5	60	10	0,47	1,10	86,26	6,28
6	60	10	0,47	1,13	87,25	6,84
7	60	10	0,47	1,08	89,63	8,64

FONTE: A Autora, 2022.

Segundo Fetzter (2021) o aumento da temperatura diminui a densidade do solvente o que reduz seu poder de solvatação e consequentemente diminui a solubilidade do solvente e reduz a recuperação de extrato da matriz sólida. Por outro lado, o aumento da temperatura a mesma pressão aumenta a solubilidade de extrato no solvente comprimido.

FIGURA 19 - CURVAS CINÉTICAS DE EXTRAÇÃO USANDO scC_3H_8 .



FONTE: A Autora (2022).

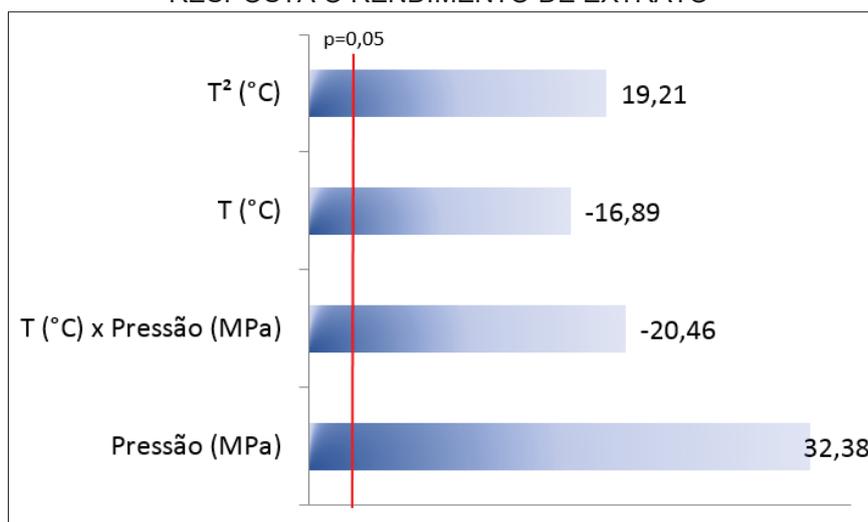
Pode-se observar que a 15 MPa a diminuição da temperatura ocasiona o aumento da densidade do solvente comprimido e consequentemente o aumento do rendimento da extração. A 5 MPa ocorre o contrário, a 80 °C a recuperação de extrato foi de 1,11 % e a 40 °C, de 1,02 %. Observa-se que as condições de maior rendimento deste planejamento experimental foram a 40 °C e 15 MPa (ensaio 3). Observou-se que a extração com propano atingia a etapa DC da extração em período mais curto de tempo em relação às extrações com $scCO_2$.

Para avaliar a influência das variáveis de extração, temperatura e pressão, sobre os rendimentos de extração foi realizada a análise de variância (TABELA 17) e o gráfico de Pareto (FIGURA 20) mostrando o efeito significativo ($p < 0,05$) de cada variável estudada neste processo.

A FIGURA 20 mostra o gráfico de Pareto para rendimento de extrato como variável de resposta e observar-se que tanto o efeito da pressão quanto

o da temperatura foram estatisticamente significativos. Porém se observa que a pressão ocasionou efeito mais relevante e positivo, com aumento da pressão houve aumento de rendimento, enquanto que a temperatura ocasionou efeito negativo, com o aumento da temperatura houve diminuição do rendimento de extrato. Tais efeitos corroboram os resultados obtidos no planejamento experimental.

FIGURA 20 INFLUÊNCIA DE FATORES PARA EXTRAÇÕES COM scC_3H_8 E VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO



FONTE: A Autora (2022).

A TABELA 17 mostra os resultados da análise de variância e os resultados indicam que as conclusões para o rendimento da extração se confirmam. Os fatores analisados são significativos ($p < 0,05$) e o modelo utilizado para o ajuste de dados é significativo.

TABELA 17 - ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO

Fator	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F _{calculado}	p
T (°C)	0,180625	1	0,180625	285,197	0,003488
T ² (°C)	0,233630	1	0,233630	368,889	0,002700
P (MPa)	0,664225	1	0,664225	1048,776	0,000952
T (°C) x P (MPa)	0,265225	1	0,265225	418,776	0,002379
Erro	0,001267	2	0,000633		
Total	1,344971	6			

*R² = 0,99906; ajuste: 0,99717; média quadrática residual = 0,0006333; F_{tabelado} = 19,25
 FONTE: A autora (2022).

A FIGURA 21 apresenta a superfície de resposta para as extrações com scC_3H_8 com variável de resposta o rendimento de extrato. A Equação (14) mostra a equação da curva.

$$\%_{extrato} = 2,7034 - 0,0956 * T + 0,0009 * T^2 + 0,2360 * P - 0,0026 * T * P \quad (14)$$

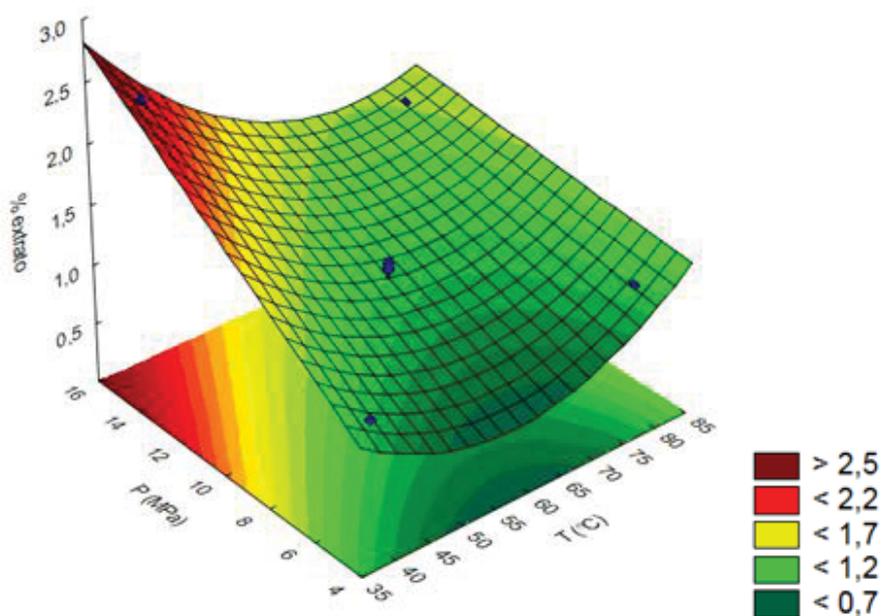
Onde:

T: Temperatura (°C)

P: Pressão (MPa)

%extrato: Rendimento de extrato obtido (%)

FIGURA 21 SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EXTRAÇÃO COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA O RENDIMENTO DE EXTRATO



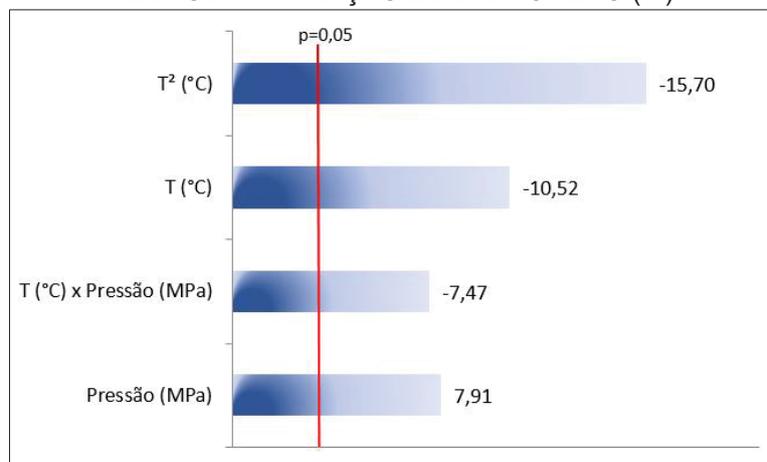
FONTE: A Autora (2022)

A FIGURA 21 indica que quanto maior a pressão e menor a temperatura mais alto é o rendimento de extrato. O rendimento máximo seria de aproximadamente 2,8% para pressão de 16 MPa e temperatura de 35 °C, sendo assim um novo planejamento experimental seria necessário para atingir o rendimento ótimo.

As mesmas análises estatísticas, gráfico de Pareto (Figura 22), análise de variância (TABELA 18) e superfície de resposta (FIGURA 23), foram

realizadas utilizando a fração de d-limoneno como variável de resposta a fim de constatar quais fatores mais influenciaram sua obtenção e otimização.

FIGURA 22 INFLUÊNCIA DE FATORES PARA EXTRAÇÕES COM scC_3H_8 E VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%)



FONTE: A autora (2022)

A Figura 22 mostra o gráfico de Pareto e pode-se observar que a tanto a pressão quanto a temperatura ocasionam efeito significativo na obtenção de d-limoneno. Segundo González-Mas *et al.* (2019), o d-limoneno é um composto volátil, o que pode explicar o efeito negativo da temperatura sobre a fração de d-limoneno dos extratos, enquanto que a pressão ocasionou efeito positivo.

A análise variância realizada é mostrada na TABELA 18 e ratifica os efeitos observados no gráfico de Pareto (Figura 22). Pode-se observar através dos valores de $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} que o modelo utilizado para o ajuste de dados é significativo.

TABELA 18 - ANOVA PARA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL COM scC_3H_8 COM VARIÁVEL DE RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%)

Fator	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F	p
T (°C)	331,968	1	331,968	110,6475	0,008917
T ² (°C)	739,056	1	739,056	246,3328	0,004035
P (MPa)	187,690	1	187,690	62,5585	0,015612
T (°C) x P (MPa)	167,444	1	167,444	55,8102	0,017450
Erro puro	6,000	2	3,0002		
TOTAL	1432,158	6			

* $R^2 = 0,99581$; Ajuste = 0,98743; Média quadrática residual = 3,000233; $F_{\text{tabelado}} = 19,25$

FONTE: A autora (2022).

A FIGURA 23 mostra a superfície de resposta para as extrações com scC_3H_8 de forma a maximizar a percentagem de d-limoneno obtida no extrato. A equação (15) mostra a equação da curva.

$$\begin{aligned} \%d\text{-limoneno} = & -124,3467 + 6,4205 * T - 0,05191 * T^2 + 5,252 * P \\ & - 0,0647 * T * P \end{aligned} \quad (15)$$

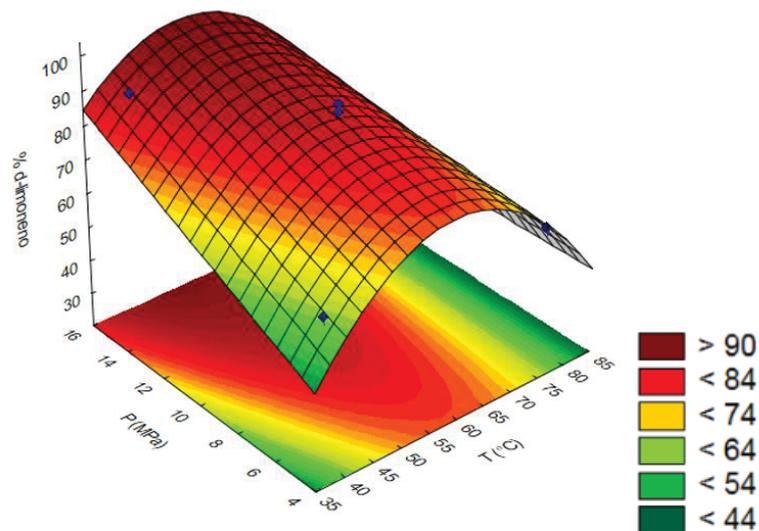
Onde:

T: Temperatura (°C)

P: Pressão (MPa)

%d-limoneno: Fração de d-limoneno obtida (%)

FIGURA 23 SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EXTRAÇÕES COM SCC3H8 E VARIÁVEL RESPOSTA A FRAÇÃO DE D-LIMONENO (%)



FONTE: A autora (2022).

A FIGURA 23 indica que a fração máxima de d-limoneno é obtida nas condições de 12 a 16 MPa e de 40 a 70 °C. Dessa forma, como o objetivo deste estudo é a extração de d-limoneno um novo planejamento experimental não seria necessário.

4.3.4 Comparação dos extratos obtidos por diferentes tipos de extração

A caracterização química dos extratos obtidos foi realizada para verificar qual o método de extração permitiu a obtenção da maior percentagem de d-limoneno no extrato, visto que a obtenção deste foi o objetivo principal deste estudo. Para tal, os extratos obtidos por hidrodestilação, extração Soxhlet com hexano e fluidos pressurizados foram analisados por CG-MS. A **Erro! Fonte e referência não encontrada.** mostra os principais componentes dos extratos.

TABELA 19 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

(continua)

Extratos obtidos por hidrodestilação e extração Soxhlet com hexano					
Composto/Ensaio	HD – RP1	HD – RP2	SE – RP1	SE – RP2	
Ácido palmítico	-	-	-	-	
β –pineno	-	0,42	-	-	
β-mirceno	-	1,92	-	1,05	
d-limoneno	87,65	90,27	44,83	75,62	
γ-terpineno	9,18	7,05	3,39	4,47	
Careno	0,51	-	-	-	
Carvona	-	-	-	2,26	
Decanal	-	-	3,13	-	
Dodecanal	-	-	3,55	-	
Germacreno D	-	-	2,63	-	
Linalol	1,84	0,34	6,55	-	
Timol	-	-	4,15	-	
Seletividade d-limoneno	7,10	9,28	0,81	1,76	
Extratos obtidos com scCO₂					
Composto/Ensaio	20 MPa 80°C	20 MPa 40°C	10 MPa 80°C	10 MPa 40°C	
Ácido palmítico	3,1	3,81			
β –pineno	-	-			
β-mirceno	1,41	1,75			
d-limoneno	89,01	81,63	Extrato não obtido	Extrato não obtido	
γ-terpineno	6,48	6,1			
Linalol	-	-			
Timol	-	0,5			
Seletividade d-limoneno	8,10	4,44			
Extratos obtidos com scCO₂-hexano					
Composto/Ensaio	20 MPa – 80°C – 2:1	20 MPa – 40°C – 2:1	10 MPa – 80°C – 2:1	10 MPa – 40°C – 2:1	15 MPa – 60°C – 1:1
Ácido butanoico	-	0,69	-	-	-
Ácido palmítico	2,96	6,81	0,55	2,99	-
α-santonin	-	0,55	-	-	-
β –pineno	-	-	-	-	-
β-mirceno	1,66	1,47	1,49	1,53	1,61± 0,02
d-limoneno	74,23	67,82	73,01	70,12	77,75± 2,06
Epoxi limoneno	-	0,53	-	-	-

FONTE: A Autora (2022).

TABELA 19 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

(conclusão)

Extratos obtidos com scCO₂-hexano					
Composto/Ensaio	20 MPa – 80°C – 2:1	20 MPa – 40°C - 2:1	10 MPa – 80°C - 2:1	10 MPa – 40°C - 2:1	15 MPa – 60°C - 1:1
γ-terpineno	5,5	5,09	5,15	5,23	5,78± 0,16
Linalol	-	-	0,32	-	-
o-cimeno	-	-	0,21	-	-
Timol	-	0,42	0,30	-	-
Seletividade d-limoneno	2,89	2,11	3,20	2,35	3,51± 0,42

Extratos obtidos com scC₃H₈					
Composto/Ensaio	15 MPa 40°C	15 MPa 80°C	10 MPa 60°C	5 MPa 40°C	5 MPa 80°C
Ácido palmítico	1,62	-	1,76± 1,43	-	-
α-terpineol	-	3,45	-	17,03	-
β –pineno	-	-	-	-	-
β-mirceno	1,99	-	1,93± 0,05	-	1,24
d-limoneno	89,38	58,76	87,94± 1,48	62,74	57,46
Germacreno-D	-	3,45	-	7,98	-
γ-terpineno	6,54	4,45	6,51± 0,08	6,19	4,24
Linalol	-	8,58	-	6,06	-
Timol	0,47	5,44	0,59± 0,06	-	-
Seletividade d-limoneno	8,42	1,39	7,25± 1,24	1,68	1,35

FONTE: A Autora (2022).

De acordo com os dados obtidos pode-se observar que nos ensaios por extrações convencionais se obteve seletividade para d-limoneno de 7,10 para HD-RP1, 9,28 para HD-RP2, 0,81 para SE-RP1 e 1,76 para SE-RP2. Observa-se e que a composição do resíduo influencia diretamente na obtenção de d-limoneno, pois este composto está presente somente nas cascas do fruto.

Os ensaios que utilizaram scCO₂ como solvente resultaram em elevadas frações de d-limoneno, a 20 MPa e 80 °C de 89,01% e a 40 °C de 81,63%. Porém com a diminuição da temperatura a seletividade diminuiu de 8,10 para 4,44. Os ensaios que utilizaram scCO₂-hexano como cossolvente resultaram nas percentagens e seletividades mais baixas de d-limoneno. Verificou-se que a presença do hexano diminui a seletividade para o composto de interesse, d-limoneno.

Os ensaios que utilizaram scC₃H₈ como solvente obtiveram a maior percentagem de d-limoneno, 89,63 %, próximo ao da hidrodestilação do RP1, 87,65 %, método que foi utilizado para comparação da fração de d-limoneno, além da mais alta seletividade, 8,42, nas condições de 40 °C e 15 MPa.

Observa-se também que a temperaturas mais altas a seletividade de d-limoneno diminui.

Em relação a composição química dos extratos, observou-se que os ensaios que utilizaram hexano como cossolvente resultaram em extração de terpenos e de ácidos graxos, como ácido palmítico e ácido butanóico. Já os ensaios que não utilizaram $scCO_2$ e scC_3H_8 apresentaram perfil composto por apenas terpenos, como d-limoneno, β -mirceno e γ -terpineno, principais terpenos extraídos.

Para verificar o método de extração e as condições mais eficientes foi realizado cálculo de produção de d-limoneno para cada método, solventes e condições. Foi usado como base de cálculo a produção anual de tangerinas na região do Vale da Ribeira, de 81 mil toneladas no ano de 2022; o teor de umidade obtido por método gravimétrico para o RP1, 8,5%; o rendimento de extrato e a percentagem de d-limoneno obtidos para cada extrato. A TABELA 20 mostra os resultados.

TABELA 20 PRODUÇÃO DE D-LIMONENO/ANO A PARTIR DE RESÍDUO DE TANGERINA POKKAN

(continua)

Extrações convencionais									
Extração	Solvente	m_{RP1} (g)	m_{ext} (g)	% d-lim	m_{d-lim} (g)	% d-lim/RP1	P_{d-lim} (t/ano)		
HD-RP1	Água	50,08	0,11	87,65	0,10	0,19	26,26		
HD-RP2	Água	50,24	0,83	90,27	0,75	1,49	203,43		
SE-RP1	Hexano	5,05	0,10	44,83	0,04	0,89	121,09		
SE-RP2	Hexano	5,05	0,09	63,76	0,06	1,14	155,00		
Extrações com fluidos pressurizados									
Solvente	P (MPa)	T (°C)	R (g/g)	m_{RP1} (g)	m_{ext} (g)	% d-lim	m_{d-lim} (g)	% d-lim/RP1	P_{d-lim} (t/ano)
$scCO_2$	20	80	0:1	20,14	0,30	89,01	0,27	1,34	182,13
$scCO_2$	10	40	0:1	20,05	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
$scCO_2$	10	80	0:1	20,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$scCO_2$	20	40	0:1	20,03	0,26	81,63	0,21	1,05	143,63
$scCO_2$	10	40	2:1	20,06	0,28	70,12	0,20	0,99	134,87
$scCO_2$	10	80	2:1	20,51	0,35	76,21	0,26	1,29	175,69
$scCO_2$	20	40	2:1	20,19	0,28	67,82	0,19	0,96	130,44

R: razão mássica cossolvente: RP1; m_{RP1} : massa de RP1 utilizada na extração; m_{ext} : massa de extrato obtida; % d-lim: fração de d-limoneno obtida na extração; m_{d-lim} : massa de d-limoneno obtida na extração; % d-lim/RP1: fração de d-limoneno por grama de RP1; P_{d-lim} : Produção anual de d-limoneno a partir de RP1 utilizando como base de cálculo a produção anual de Ponkan na região do Vale da Ribeira.

FONTE: A Autora (2022).

TABELA 20 PRODUÇÃO DE D-LIMONENO/ANO A PARTIR DE RESÍDUO DE TANGERINA PONKAN

(conclusão)

Extrações com fluidos pressurizados									
Solvente	P (MPa)	T (°C)	R (g/g)	m _{RP1} (g)	m _{ext} (g)	% d-lim	m _{d-lim} (g)	% d-lim/RP1	P _{d-lim} (t/ano)
scCO ₂	20	80	2:1	20,02	0,32	74,26	0,24	1,20	163,09
scCO ₂	15	60	1:1	20,11	0,30	77,26	0,23	1,15	157,35
scC ₃ H ₈	10	60	-	20,43	0,21	87,71	0,19	0,92	125,38
scC ₃ H ₈	40	15	-	20,10	0,47	89,38	0,42	2,10	286,52
scC ₃ H ₈	80	15	-	20,14	0,29	58,22	0,17	0,83	112,77
scC ₃ H ₈	80	5	-	20,08	0,22	57,46	0,17	0,64	87,79
scC ₃ H ₈	40	5	-	20,11	0,21	62,74	0,13	0,64	87,29

R: razão mássica cossolvente: RP1; m_{RP1}: massa de RP1 utilizada na extração; m_{ext}: massa de extrato obtida; % d-lim: fração de d-limoneno obtida na extração; m_{d-lim}: massa de d-limoneno obtida na extração; % d-lim/RP1: fração de d-limoneno por grama de RP1; P_{d-lim}: Produção anual de d-limoneno a partir de RP1 utilizando como base de cálculo a produção anual de Ponkan na região do Vale da Ribeira.

FONTE: A Autora (2022).

Os ensaios comparativos com HD mostram que a composição do resíduo é fator determinante para a produção de d-limoneno. Para o RP1 a produção é de 26,26 t/ano enquanto que para o RP2, 203,43 t/ano, ou seja, um aumento superior a 7 vezes. Pode-se observar que utilizando o RP1 a extração com scC₃H₈ a 15 MPa e 40 °C é a que indica maior produção de d-limoneno, de 286,52 ton/ano. Entre as extrações sem residual de cossolvente pode-se destacar ainda o uso de scCO₂ a 20 MPa que resultaria em produção de 182,13 t/ano a 80 °C e 143,63 t/ano a 40 °C.

Os ensaios comparativos com SE, utilizando hexano, resultaram em produção de 121,09 t/ano para o RP1 e 155,00 t/ano para o RP2. Entre as extrações que utilizaram scCO₂-hexano pode-se destacar as condições de 10 MPa, 80 °C e razão de cossolvente de 2:1, com produção de 175,69 t/ano.

Foi realizada pesquisa de valor de mercado do d-limoneno e seus derivados a fim de demonstrar o valor agregado desses produtos e sua importância comercial. Os dados foram coletados em julho de 2022, da cidade de Milwaukee, EUA. Para carveol e álcool perílico, a conversão para o preço em mL foi efetuado através de suas densidades, 0,96 g/mL. A TABELA 21 mostra os resultados desta análise.

TABELA 21 ANÁLISE DE PREÇO DE MERCADO DE D-LIMONENO E SEUS DERIVADOS

Componente	Preço (US\$) / 100 ml
d-limoneno	17,48
Carveol	63,26
Carvona	34,80
α -Terpineol	89,60
Álcool Perílico	32,83
Epóxidos	140,00

Fonte: sigmaaldrich.com.

Por fim, realizou-se cálculo do valor da produção de d-limoneno, considerando a produção de tangerinas da região do Vale da Ribeira, 81 mil toneladas por ano, o valor comercial do d-limoneno, US\$ 17,48/100 mL e a densidade de d-limoneno de 0,841 g/mL. A TABELA 22 mostra esses valores.

TABELA 22 - VALOR COMERCIAL DA PRODUÇÃO ANUAL DE D-LIMONENO APARTIR DE RESÍDUO DE TANGERINA PONKAN

Extrações convencionais						
Extração	Solvente	% d-lim/RP1	P _{d-lim} (t/ano)	Valor P _{d-lim} (US\$/ano)		
HD-RP1	Água	0,19	26,26	5.458.453,15		
HD-RP2	Água	1,49	203,43	42.282.553,35		
SE-RP1	Hexano	0,89	121,09	25.169.040,65		
SE-RP2	Hexano	1,14	155,00	32.217.270,32		
Extrações com fluidos pressurizados						
Solvente	P (MPa)	T (°C)	R (g/g)	% d-lim/RP1	P _{d-lim} (t/ano)	Valor P _{d-lim} (US\$/ano)
scCO ₂	20	80	0:1	1,34	182,13	37.854.661,01
scCO ₂	10	40	0:1	0,00	0,00	-
scCO ₂	10	80	0:1	0,00	0,00	-
scCO ₂	20	40	0:1	1,05	143,64	29.855.806,56
scCO ₂	10	40	2:1	0,99	134,87	28.031.757,11
scCO ₂	10	80	2:1	1,29	175,69	36.516.401,00
scCO ₂	20	40	2:1	0,96	130,44	27.112.289,89
scCO ₂	20	80	2:1	1,20	163,09	33.897.691,45
scCO ₂	15	60	1:1	1,15	157,35	32.705.105,90
scC ₃ H ₈	10	60	-	0,92	125,38	26.059.008,96
scC ₃ H ₈	40	15	-	2,10	286,52	59.552.159,41
scC ₃ H ₈	80	15	-	0,83	112,77	23.439.581,15
scC ₃ H ₈	80	5	-	0,64	87,79	18.246.221,63
scC ₃ H ₈	40	5	-	0,64	87,29	18.144.039,70

R: razão mássica cossolvente: RP1; % d-lim/RP1: fração de d-limoneno por grama de RP1; P_{d-lim}: Produção anual de d-limoneno a partir de RP1 utilizando como base de cálculo a produção anual de Ponkan na região do Vale da Ribeira; Valor P_{d-lim}: valor comercial da produção de d-limoneno. FONTE: A Autora (2022).

A partir dos dados da TABELA 22 pode-se perceber que a separação das cascas antes da extração de suco proporciona extrações com maior rendimento de óleo essencial por hidrodestilação e conseqüentemente maior rendimento de d-limoneno. As extrações que utilizaram hexano são uma alternativa para aplicações do extrato nas quais as frações residuais deste solvente não representam risco de toxicidade. As extrações com propano subcrítico na condição de densidade mais alta ainda seria a produção de maior valor. Contudo, em todos os casos analisados um estudo de viabilidade econômica seria necessário para indicar o processo mais vantajoso.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou a viabilidade técnica da obtenção de extrato a partir do resíduo da indústria de sucos de tangerina ponkan com alta percentagem de d-limoneno. Foram analisados extratos obtidos por hidrodestilação, extração Soxhlet, extração com CO₂ supercrítico, extração com CO₂ supercrítico e hexano como cossolvente e extração com C₃H₈ subcrítico.

Na hidrodestilação se obteve do RP1 87,65% de d-limoneno e seletividade de 7,10. Na Extração Soxhlet se verificou que o melhor solvente era o hexano e se obteve 44,83% de d-limoneno com 0,81 de seletividade.

As extrações preliminares com fluidos pressurizados definiram as condições que seriam avaliadas neste estudo e a partir destas foi realizado planejamento experimental em dois níveis com triplicada no ponto central. Para verificar a influência de fator no sistema em questão foi realizado análise de variância e gráfico de Pareto para as extrações com scCO₂ e scC₃H₈ e a curva de superfície de resposta. Os resultados indicam que o fator de maior influência foi a pressão para as extrações com scC₃H₈ e a razão de cossolvente para as extrações com scCO₂.

As extrações com scCO₂ resultaram em alta percentagem de d-limoneno, porém com baixo rendimento de extrato. A presença de hexano como cossolvente aumentou o rendimento da extração, porém com seletividade de d-limoneno de 2,3 a 3,2. As extrações com scC₃H₈ resultaram no mais alto rendimento de extrato (2,35%), de d-limoneno (89,38%) e de seletividade (8,42). Por outro lado, esta extração é a de maior custo de operação devido ao alto valor comercial do solvente.

Por fim, verificou-se que a extração de d-limoneno a partir de resíduo agroindustrial de tangerina ponkan pode resultar em grande produção anual e provável rentabilidade de d-limoneno, com produção de até 286 t/ano de d-limoneno. O presente estudo mostrou a viabilidade técnica de agregar valor a um resíduo agroindustrial, o que poderia gerar empregos e contribuir para o bem-estar dos consumidores.

5.1. Sugestões para trabalhos futuros

- Realizar a análise econômica do processo para cada método de extração e solvente para se avaliar a viabilidade comercial destes processos;
- Realizar extração sequencial de óleo essencial por extração por arraste a vapor e, em seguida, de frações lipídicas por extração com fluidos pressurizados para avaliar a viabilidade técnica do total aproveitamento dos compostos presentes no resíduo de ponkan; e,
- Realizar a modelagem matemática da cinética de extração com fluidos pressurizados para prever condições de temperatura e pressão com rendimento de extração economicamente viáveis.

REFERÊNCIAS

AL-HAMIMI, S.; MAYORAL, A. A., CUNICO, L. P., TURNER, C. Carbon Dioxide Expanded Ethanol Extraction: Solubility and Extraction Kinetics of α -Pinene and cis-Verbenol. **Journal Analytical Chemistry**, 2016.

ANVISA, Resolução - RDC n. 2 de 15 de janeiro de 2007.

ARAÚJO, M. N., PALADONAI, A. Q., AZEVEDO, L. HAMERSKI, F., VOLL, F. A. P., CORAZZA, M. L. Enhanced extraction os spent coffee grounds oil using high-pressure CO₂ plus etanol solvents. **Industrial Crops and Products**, v. 141, 2019.

AREIAS, F, *et al.* Flavonoids and Phenolic Acids of Sage: Influence of Some Agricultural Factors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6081–6084, 2000.

ASBAHANI, El A. *et al.* Essencial oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, n 483, p.220-243, 2015.

ATTI-SANTOS, A. C., ROSSATO, M., SERAFINI, L. A., CASSEL, E., MOYNA, P. Extraction of Essential Oils from Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) Hydrodistillation and Supercritical Carbon Dioxide. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V. 48, 2005.

BANDONI, A. L. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica – 2^a. Ed.– Buenos Aires, 2003.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. S. Como fazer experimentos, 2a ed, Editora Unicamp, São Paulo 2013.

BECERRA, J. A., GONZÁLEZ, L. M., VILLA, A.L. A bio-inspired heterogeneous catalyst for the transformation of limonene from orange peel waste biomass into value-added products. **Catalysis Today**, n 302, p 250–260, 2018.

BERTOUCHE, S.; TOMAO, V.; HELLAL, A.; BOUTEKEDJIRET, C.; CHEMAT, F. First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 6, p. 439-443, 2013.

BICAS, J. K.; QUADROS, C. P.; NÉRI-NUMA, I. A.; PASTORE, G. M. Integrated process for co-production of alkaline lipase and R-(+)- α -terpineol by *Fusarium oxysporum*. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p 452–456, 2010.

BOUDJIT, D., ANNOUN, M., EL-HADI, D. Étude de l'influence de la taille des particules de la poudre des écorces des fruits de mandarine *Citrus Reticulata* Blanco L. sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle. **Revue Agrobiologia**, v. 12, 2022.

BRAHMI, F., MOKHTARI, O., LEGSSYER, B., HAMDANI, I., ASEHRAOU, A., HASNAOUI, I., ROKNI, Y., DIASS, K. OUALDI, I., TAHANI, A. Chemical and biological characterization of essential oils extracted from citrus fruits peels. **Materials Today: Proceedings**. 2021.

CAPUZZO, Andrea; MAFFEI, Massimo; OCCHIPINTI, Andrea. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 7194-7238, 2013.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; RAVI, H.K.; KHADHRAOUI, B.; HILALI, S.; PERINO, S.; TIXIER, F. A. S. Review of Alternative Solvents for Green Extraction of Food and Natural Products: Panorama, Principles, Applications and Prospects. **Molecules**, n. 24, 2019.

CHEN, R., JIN, C., TONG, Z., LU, J., TAN, L., TIAN, L., CHANG, Q. Optimization extraction, characterization and antioxidant activities of pectic polysaccharide from tangerine peels. **Carbohydrates Polymers**, v. 136, pp. 187-197, 2016.

COLODEL, C., VRIESMANN, L. C., PETKOWICZ, C. L. O. Cell wall polysaccharides from Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan) peel. **Carbohydrates Polymers**, v. 195, pp. 120-127, 2018.

COMEC - Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba, Produtores da tangerina ponkan do Brasil. 2020.

DAO, T. P., NGO, T. Q. C., LE, T. D., NGO, H. D., THAO, P., TRAN, T. G., NGUYEN, N. T., HUYNH, X. P. Comparative study of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation, microwave extraction and hydrodistillation methods from Tien Giang, Vietnam. **Materials Science and Engineering**, V. 991, 2020.

DIAS, I. P., BARBIERI, S. F., FETZER, D. E. L., CORAZZA, M. L., SILVEIRA, J. L. M. Effects of pressurized hot water extraction on the yield and chemical characterization of pectins from *Campomanesia xanthocarpa* Berg fruits. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 146, pp. 431-443, 2020.

DOSOKY, N. S., SETZER, W. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. **International Journal of Molecular Sciences**, v 19, 2018.

DUGO, P., BONACCORSI, I., RAGONESE, C., RUSSO, M., DONATO, P., SANTI, L., MONDELLO, L. Analytical characterization of mandarin (*Citrus deliciosa* Ten.) essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 26, p. 34-46, 2011.

DUPUY, A, ATHES, V., SCHENK, J., JENELTEN, U., SOUCHON, I. Experimental and theoretical considerations on breakthrough pressure in membrane-based solvent extraction: Focus on citrus essential oil/hydroalcoholic

solvent systems with low interfacial tension. **Journal of Membrane Science**, v. 378, p. 203–213, 2011.

EMBRAPA. **Diferenciação das Tangerineiras Mais Cultivadas no Rio Grande do Sul**. 2018. Disponível em: <shorturl.at/ghwNP> Acesso em 22. Set 2021.

EMBRAPA. Diferenciação entre as Cultivares de Tangerineira 'BRSCAI Silvana', 'Montenegrina' e 'Caí'. 2016. Disponível em: < shorturl.at/rtxWY> Acessado em 29. set.2021.

EOM, H, J, LEE, D., LEE, S., NOH, H. J., HYUN, J. W., YI, P. H., KANG, K. S., KIM, K. H. Flavonoids and a Limonoid from the Fruits of Citrus unshiu and Their Biological Activity. **Journal of agricultural and food chemistry**. V. 64, p. 7171-7178, 2016.

ESONYE, A., ONUKWULI, O. D., ANADEBE, J. N. O., EZEUGO, N. J. Application of soft-computing techniques for statistical modeling and optimization of *Dyacrodes edulis* seed oil extraction using polar and non-polar solvents. **Jornal Heliyon**, n7, 2021.

FERREIRA, S. S.; SILVA, A. M.; NUNES, F. M. *Citrus reticulata* Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. **Industrial Crops & Products**, n. 111, p. 141–148, 2018.

FETZER, D. L., HAMERSKI, F., ERRICO, M., CORAZZA, M. L. Extraction of cumaru seed oil using compressed propane as solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 169, 2021.

FRANCO-ARNEDO, G.; BUELVAS-PUELLO, L.M.; MIRANDA-LASPRILLA, D.; MARTÍNEZ-CORREA, H.A.; PARADA-ALFONSO, F.. Obtaining antioxidant extracts from tangerine (*C. reticulata* var. *Arrayana*) peels by modified supercritical CO₂ and their use as protective agent against the lipid oxidation of a mayonnaise. **The Journal Of Supercritical Fluids**, [S.L.], v. 165, p. 104957, nov. 2020.

GEHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S. Aproveitamento da casca de Citrus na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal Food Technology**, IV SSA, p. 11-17, 2012.

GOLMOHAMMADI, M., D BORGHEI, A., ZENOUI, A., ASHRAFI, N., TAHERZADEH, M. J. Optimization of essential oil extraction from orange peels using steam explosion. **Heliyon**. V. 4, 2018.

GOMIDE, R. Operações Unitárias, volume 1, p. 298, 1983.

GONZÁLES-MAS, M. C., RAMBLA, J. L., LÓPES-GRESA, M. P., BLÁZQUEZ, M. A., GRANELL, A. Volatile Compounds in *Citrus* Essential Oils: A Comprehensive Review. **Frontier in Plant Science**. 2019

GOTTUSO, A, *et al.* Catalytic and photocatalytic epoxidation of limonene: Using mesoporous silica nanoparticles as functional support for a Janus-like approach. **Journal of Catalysis**. 391-202-211. 2020.

Grand View Research, Flavors and Fragrances Market Analysis By Product (Natural, Aroma), By Application (Flavors, Fragrances), By Region (North America, Europe, APAC, MEA, Central & South America), & Segment Forecasts, , pp. 2018–2025, 2019.

HANDA, S, S; KHANUJA, S, P, S; LONGO, G; RAKADESH, D, D. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. **International Centre for Science and High Technology**. Trieste, 2008.

HOU, H, BONKU, E. M., ZHAI, R., ZENG, R., HOU, Y., YANG, Z., QUAN, C. Extraction of essential oil from Citrus reticulata Blanco peel and its antibacterial activity against Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes). **Heliyon**, v. 5, 2019.

IBGE - **Produção Agrícola Municipal**, 2018.

Disponível em: <shorturl.at/sFOU1> Acesso em: 28 ago 2020.

INOUE, T, TSUBAKI, S., OGAWA, K., ONISHI, K. AZUMA, J. Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. **Food chemistry**. v.123, p. 542-547. 2010.

International Standard Organization, 9235: Aromatic natural raw materials — Vocabulary. 1997

Brief Guide to the Nomenclature of Organic Chemistry. IUPAC Division of Chemical Nomenclature and Structure Representation.

Disponível em <https://iupac.org/wp-content/uploads/2021/06/Organic-Brief-Guide-brochure_v1.1_June2021.pdf> Acessado em 15 jul 2022.

JERKOVIC, I, DRUZIC, J., MARIJANOVIC, Z., GUGIC, M., JOKIC, S., ROJE, M. GC-FID/MS Profiling of Supercritical CO₂ extracts of peels from *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis* cv. Doppio Sanguigno from Dubrovnik Area (Croatia). **Natural product communications**, v. 10, n. 7, pp. 1315-1318, 2015.

JUNCHEN, P. T., ARAÚJO, M. N., HAMERSKI, F., CORAZZA, M. L., VOLL, F. A. P. Extraction of parboiled rice bran oil with supercritical CO₂ and ethanol as co-solvent: Kinetics and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 139, 2019.

KIM, I. J., JEONF, D., KIM, S. R. Upstream processes of citrus fruit waste biorefinery for complete valorization. **Bioresource Technology**, v. 362, 2022.

KRISTIAWAN, M, SOBOLIK, V., ALLAF, K. Yield and Composition of Indonesian Cananga Oil Obtained by Steam Distillation and Organic Solvent Extraction. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, 2012.

KUMAR, J., GARLAPATIA V. K., DASHA, A., SCHOLZD, P. Sustainable green solvents and techniques for lipid extraction from microalgae: A review. **Algal Research**, n. 21, p. 138-147, 2017.

KWANGJAI, J., CHEAHA, D., MANOR, R., SAIH, N., SAMERPHOB, N., ISSURIYA, A., WATTANAPIR, C., KUMARNSIT, E. Modification of brain waves and sleep parameters by *Citrus reticulata* Blanco. **Biomedical Journal**, p. 1-11, 2020.

LI, X. M., TIAN, S. L., PANG, Z. C., SHI, J. Y., FENG, Z. S., ZHANG, Y. M. Extraction of Cuminum cyminum essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and steam distillation. **Food Chemistry**, v. 115, pp. 1114–1119, 2009.

LI, W., WANG, Z., WANG, Y., JIANG, C., LIU, Q., SUN, Y., ZHENG, Y. Pressurised liquid extraction combining LC–DAD–ESI/MS analysis as an alternative method to extract three major flavones in *Citrus reticulata* ‘Chachi’ (Guangchenpi). **Food Chemistry Journal**, v. 130, pp. 1044-1049, 2012.

LOPRESTO, C. G., PETRILLO, F., CASAZZA, A. A., ALIAKBARIAN, B., PEREGO, P., CALABRÒ, V. A non-conventional method to extract d-limonene from waste lemon peels and comparison with traditional Soxhlet extraction. **Separation and Purification Technology Journal**, v. 137, pp. 13-20, 2014.

LONG, Tao; LV, Xiaojian; XU, Yin; YANG, Guliang; XU, Lan-Ying; LI, Shiming. Supercritical fluid CO₂ extraction of three polymethoxyflavones from *Citrus reticulata* pericarpium and subsequent preparative separation by continuous high-speed counter-current chromatography. **Journal Of Chromatography**, v. 1124, p. 284-289, ago. 2019.

MINTEGUIAGA, M. A., FRIZZO, C. D., DELLACASSA, E. S. Compuestos aromáticamente activos del aceite esencial de *Citrus deliciosa* Tenore var. Caí detectados por cromatografía gaseosa-espectrometría de masa y cromatografía gaseosa-olfatometría. **Journal Pharm Pharmacogn**, 2017.

MIRA, B. BLASCO, M., BERNA, A., SUBIRATS, S. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition. **Journal of Supercritical Fluids**. V. 14, pp. 95-104, 1999.

MOREIRA, R. A., RAMOS, J. D., CRUZ, M. C. M., ARAÚJO, N. A. Rentabilidade do raleio químico em tangerinas ‘ponkan’. **Revista Caatinga**, vol. 36, n.3, pp. 15-21, 2013.

MURRAY, Michael. **The Complete Book of Juicing, Revised and Updated: Your Delicious Guide to Youthful Vitality**. Clarkson Potter, 2013.

NDAYISHIMIYE, J., LIM, D. J., CHUN, B. S. Antioxidant and antimicrobial activity of oils obtained from a mixture of citrus by-products using a modified

supercritical carbon dioxide. **Journal Of Industrial And Engineering Chemistry**, [S.L.], v. 57, p. 339-348, jan. 2018.

NEGRO, V., MANCINI, G., RUGGERI, B., FINO, D. Citrus waste as feedstock for bio-based products recovery: Review on limonene case study and energy valorization. **Bioresource Technology**, v. 214, pp. 806-815, 2016.

OBA, C., OTA, M., NOMURA, K., FUJIWARA, H., TAKITO, J., SATO, Y., OHIZUMI, Y., INOMATA, H. Extraction of nobiletin from Citrus Unshiu peels by supercritical fluid and its CRE-mediated transcriptional activity. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 27, p. 33-38, abr. 2017.

OLIVEIRA, R. M. A. Avaliação de terpenos como solventes no processo de extração da cera de cana-de-açúcar. 2018. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Setor de Engenharia e Arquitetura, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Campinas, 2018.

OLSEN, M. H. N., SALOMÃO, G. C., FERNANDES, C., DRAGO, V., HORN, A., CARDOZO-FILHO, L., ANTUNES, O. A. C. Estudo da oxidação do limoneno utilizando catalisadores metaloporfíricos com variação do sistema solvente/oxidante. **Acta Scientiarum Technology**. 26. 1-6. 2004.

OZTURK, B., WINTERBURN, J., GONZALES-MIQUEL, M. Orange peel waste valorization through limonene extraction using bio-based solvents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, 2019.

PALAZZOLO, E., LAUDICINA, V. A., GERMANA, M. A. Current and potencial use of Citrus essential oils. **Current Organic Chemistry**, n. 17, p. 3042-3049, 2013.

PASSOS, C. S., ARBO, M. D., RATES, S. M. K., POSER, G. L. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 19, n. 1, 2009.

PAVLIC, B., TESLIC, N., ZENGIN, G., DUROVIC, S., RAKIC, D., CVETANOVIC, A., GUNES, A. K., ZEKOVIC, Z. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction techniques. **Food Chemistry**, vol. 338, 127724. 2021.

PIO, R. M., MINAMI, K., FIGUEIREDO, J. O. Características do fruto da variedade span americana (*Citrus reticulata* Blanco): Uma tangerina do tipo Poncã de maturação precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 325-329, 2001.

PIO, R. M.; AZEVEDO, F. A.; NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; CASTRO, J. L. Características da variedade Fremont quando comparadas com as das

tangerias Ponkan e Clementina Nules. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 28, n. 2, 2006.

RASHID, U., IBRAHIM, M., YASIN, S., YUNUS, R., YAP, Y. H. T., KNOTHE, G. Biodiesel from *Citrus reticulata* (mandarin orange) seed oil, a potential non-food feedstock. **Industrial Crops and Products**, n45, p. 355– 359, 2013.

REHMAN, A., RUSSEL, E., SALEEM, F., JAVED, F., AHMAD, S., EZE, V. C., HARVEY, A. Synthesis of trans-limonene bis-epoxide by stereoselective epoxidation of (R)-(+)-limonene. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. v. 9. 2021.

REN, Y., LIU, S., JIN, G., YANG, X., ZHOU, Y. J. Microbial production of limonene and its derivatives: Achievements and perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 44. 2020.

RIERA, E., GOLÁS, A., BLANCO, J. A., GALLEGO, J. A., BLACO, M., MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 241–244, 2004.

ROSA, R. D., NAVA, G. A., PIVA, A. L., MEZZALIRA, E. J., PAULUS, D. Poda e raleio manual de tangerineira (*Citrus deliciosa* Tenore) cv. Montenegrina no Sudoeste do Paraná. **Revista Ceres**, v. 59, n.2, 2012.

ROTTAVA, I.; CORTINA, P. F.; MARTELLO, E.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G.; ANTUNES, O. A.; OESTREICHER, E. G.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D. Optimization of α -terpineol production by the biotransformation of R-(+)-limonene and (-)- β -pinene. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 164, n. 4, p. 514-523, 2011.

ROZINA, R., AHMAD, M., ZAFAR, M. Conversion of waste seed oil of *Citrus aurantium* into methyl ester via green and recyclable nanoparticles of zirconium oxide in the context of circular bioeconomy approach. **Journal of Environmental Management**, v. 280, 2021.

ROZWALKA, L. C. Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório. 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2003.

SANDHU, S. K., OBEROI, H. S., DHALIWAL, S. S., BABBAR, N., KAUR, U., NANDA, D., KUMAR, D. Ethanol production from Kinnow mandarin (*Citrus reticulata*) peels via simultaneous saccharification and fermentation using crude enzyme produced by *Aspergillus oryzae* and the thermotolerant *Pichia kudriavzevii* strain. **Annals of Microbiology**, v.62, pp. 655–666, 2012.

SEBRAE – O cultivo e o mercado de tangeria, 2018.

Disponível em: <shorturl.at/hzGH4> Acesso em: 28 ago 2020.

SILVA, S. R., GIRARDI, E. A., SANTOS, M. S., AVILÉS, T. E. C., STUCHI, S. Plant growth, yield and fruit quality of Clementine mandarin selections under subtropical climate in Brazil. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 40, n.4, 2018.

SILVA, J. C. G., ANDERSEN, S. L. F., COSTA, R. L., MOREIRA, R. P. M., JOSÉ, H. J. Bioenergetic potencial of Ponkan peel waste (*Citrus reticulata*) pyrolysis by kinetic modeling and product characterization. **Biomass and Bioenergy**, v. 131, 105401, 2019.

SHARMA, D., VASHIST, H. Hydrodistillation and comparative report of percentage yield on leaves and fruit peels from different citrus plants of rutaceae family. **Journal of Plant Sciences**, v. 10, p. 75-78, 2015

SHORBAGI, M., FAYEK, N. M., SHAO, P., FARAG, M. A. *Citrus reticulata* Blanco (the common mandarin) fruit: An updated review of its bioactive, extraction types, food quality, therapeutic merits, and bio-waste valorization practices to maximize its economic value. **Food Bioscience**, v. 47, 2022.

SIMAS, D. L. R., AMORIM, S. H. B. M., OLIVEIRA, J. M., ALVIANO, D. S., SILVA, A. J. R. Caracterização dos óleos essenciais de frutas cítricas. **Citrus Research & Technology**, v.36, n.1, p.15-26, 2015.

SINGH, P., KAUR, A., YADAV, M. Insights into the chemical composition and bioactivities of citrus peel essential oils. **Food Research International**, v. 143, 110231, 2021.

SLUITER, A.; B, H.; RUIZ, R.; *et al.* Determination of Ash in Biomass. **National Renewable Energy Laboratory (NREL)**, v. 36, n. 4, p. 302–305, 2005.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R. O.; *et al.* Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **Biomass Analysis Technology Team Laboratory Analytical Procedure**, n. August, p. 1–14, 2004.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date 7/17/2005 - 42619.pdf. Technical Report NREL/TP-510-42619, n. January, p. 1–9, 2008.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; *et al.* Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. **National Renewable Energy Laboratory (NREL)**, n. March, p. 3–5, 2008.

SONG, Y., SEO, S., LAMICHHANE, S., SEO, J., HONG, J. H., CHA, J., YUN, J. Limonene has anti-anxiety activity via adenosine A2A receptor-mediated regulation of dopaminergic and GABAergic neuronal function in the striatum. **Phytomedicine**, v. 83. 2021.

SOVAVÁ, H. Apparent Solubility of Natural Products Extracted with Near-Critical Carbon Dioxide. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, pp. 958-965, 2012.

TANZI, C. D.; VIAN, M. A.; GINIES, C.; ELMAATAOUI, M.; CHEMAT, F.: TerP1enes as green solvents for extraction of oil from microalgae. **Molecules**, v. 17, p. 8196- 8205, 2012.

TAO, N;JIA, L; ZHOU, H. Anti-fungal activity of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **Food Chemistry**, v. 153, p. 265-271, 2014.

TEIGISEROVA, D. A., TIRUTA-BARNA, L., HAMELIN, L., THOMSEN, M. A step closer to circular bioeconomy for citrus peel waste: A review of yields and technologies for sustainable management of essential oils. **Waste Management**, v. 136, pp. 310-320, 2021.

TEIXEIRA, J. P. F., MARQUES, M. O. M., PIO, R. M. Caracterização dos óleos em frutos de nove genótipos de tangerina. **Citrus Research & Technology**, v. 35, n.1, p.1-10, 2014.

YADAV, R.; YADAV, N. Review on Extraction Methods of Natural Essential Oils. **International Journal of Pharmaceutics & Drug Analysis**. Vol: 4, Issue: 6, 266-273. 2016.

YADAV, V., Sarker, A, YADAV, A., MIFTAH, A. O, BILAL, M, IQBAL, H. M. N. Integrated biorefinery approach to valorize citrus waste: A sustainable solution for resource recovery and environmental management. **Chemosphere Journal**, v. 293, 2022.

YANG, L., ZHAO, Z., WANG, G., RUAN, X., WU, Q., LUO, C., WU, Z., WEI, F., ZHAO, Y., WANG, Q. Supercritical extraction and antioxidant activity of major ingredients in *Puerariae lobatae* root, *Pinus massoniana* needle, *Citrus reticulata* peel and their mixture. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 48, 2021.

XIONG, K., CHEN, Y. Supercritical carbon dioxide extraction of essential oil from tangerine peel: Experimental optimization and kinetics modelling. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 164, pp. 412-423, 2020.

ZEMA, D. A., CALABRÒ, P. S., FOLINO, A. TAMBURINO, V., ZAPPIA, G., SIMBONE, S. M. Valorisation of citrus processing waste: A review. **Waste Management**, v. 80, p. 252-273, 2018.

ZHANG, X, GAO, H., ZHANG, L., LIU, D., YE, X. Extraction of essential oil from discarded tobacco leaves by solvent extraction and steam distillation, and identification of its chemical composition. **Industrial Crops and Products**, 39, 162–169. 2012.