

Extração e aplicação do óleo essencial da casca da laranja como um ingrediente natural

Extraction and application of orange peel essential oil as a natural ingredient

Andressa Neuhaus Ferronato^a, Rochele Cassanta Rossi^a

andressaferronato93@gmail.com, rochelecr@unisinós.br

^aUniversidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, Av. Unisinós, 950, São Leopoldo, RS.

Resumo

A extração de óleos essenciais, produtos originados do metabolismo secundário das plantas, apresentam características benéficas por atuarem como antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos, antifúngicos, entre outros. O presente trabalho avaliou o perfil químico e a capacidade antioxidante do óleo essencial extraído da casca da laranja *Citrus sinensis* (L.) Osbeck e o seu potencial como ingrediente natural no desenvolvimento de produto. O óleo essencial foi extraído através do método de hidrodestilação com aparelho Clevenger. A atividade antioxidante foi avaliada através da captura de radicais livres pelos métodos ABTS^{•+} e DPPH e o perfil fitoquímico por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O D-limoneno (91,4%) e beta-mirceno (2,46%) foram encontrados como componentes químicos majoritários. O IC₅₀ no teste de DPPH ocorreu na concentração de 0,02 μmol ET/mL e o IP em 0,03 μmol ET/mL, alcançando inibição de 81,45%. No teste de ABTS^{•+}, o IC₅₀ ocorreu em torno de 11 μmol ET/L e o IP em 20 μmol ET/L, alcançando inibição de 94,64%. Posteriormente às análises químicas, foi desenvolvida uma gelatina sabor laranja com o óleo essencial extraído. A qualidade do produto foi avaliada por meio de análise sensorial em escala hedônica de 7 pontos com 60 alunos da Universidade UNISINOS. As notas obtidas para sabor, aroma e textura foram entre 6 (gostei muito) e 7 (gostei muitíssimo). No atributo aparência, as notas foram mais baixas, e a nota média foi 5 (gostei moderadamente). No índice de aceitação do produto, a avaliação global foi de 83,21%. Desta maneira, conclui-se que a gelatina natural foi

Abstract

The extraction of essential oils, products from plants secondary metabolites, has beneficial features for acting as antioxidants, anticancer, antimicrobial, antifungal and among others. This research evaluated the chemical profile and the antioxidant capacity of the essential oil obtained from *Citrus sinensis* (L.) Osbeck peel and its potential as natural ingredient in product development. The essential oil was extracted by hydrodistillation method with Clevenger. The antioxidant activity was assessed by capturing free radicals through ABTS^{•+} and DPPH methods and the phytochemical profile was assessed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). D-Limonene (94.1%) and Beta-Myrcene (2.46%) were found as major compounds. The IC₅₀ to DPPH test occurred at 0.02 μmol ET/mL and IP test at 0.03 μmol ET/mL concentrations, reaching inhibition of 81.45%. At ABTS test, IC₅₀ occurred around 11 μmol ET/L and IP at 20 μmol ET/L, reaching inhibition of 94.64%. After chemical analysis, it was developed an orange flavor gelatin containing the essential oil extracted. The product quality had been tested by sensorial analysis on 7 points hedonistic scale with 60 students from UNISINOS University. The grades obtained to flavor, aroma and texture were around 6 and 7 (really enjoyed it). To appearance attribute, the grades were lower and the average grade was 5 (moderately liked). The global acceptance rate was 83.21%. Thus, it was concluded that the natural gelatin containing essential oil was well accepted by the evaluators. It means it may be marketed for its antioxidant properties as well as for its sensory properties, being aligned to consumer behavior and new market trends.

bem aceita pelos avaliadores, podendo ser comercializada tanto por suas propriedades antioxidantes, quanto por suas propriedades sensoriais, estando alinhado ao comportamento do consumidor e às novas tendências de mercado.

Palavras-chave: Óleos essenciais. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Cromatografia Gasosa. Capacidade antioxidante. Análise sensorial.

Keywords: Essential oils. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Gas chromatography. Antioxidant capacity. Sensory analysis.

Introdução

Atualmente, diferentes espécies de plantas estão sendo estudadas, bem como o isolamento de seus princípios ativos, servindo de modelo para o desenvolvimento de novos ingredientes e produtos. Os produtos naturais estão cada vez mais em evidência, e os óleos essenciais ganham destaque por sua mistura de substâncias complexas e voláteis, conferindo às plantas seus aromas específicos. Além disso, atuam como sistemas de defesa no reino vegetal, visto que são fontes de agentes biocidas e apresentam atividades bactericidas, inseticidas e fungicidas. (Gomes, 2015).

Para atender à essas demandas, a célula utiliza macromoléculas, as quais são chamadas de carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos. Por serem processos essenciais à vida e comuns aos seres vivos, essas macromoléculas são definidas como integrantes do metabolismo primário. Entretanto, vegetais e microrganismos apresentam um peculiar arsenal metabólico (enzimas, coenzimas e organelas) capazes de produzir, transformar ou acumular substâncias não necessariamente essenciais para a manutenção da vida do produtor, mas para garantir vantagens de sobrevivência. Esse metabolismo específico e diferenciado é denominado de metabolismo secundário. (Simões et al., 2010).

Os óleos essenciais, por sua vez, são compostos originados do metabolismo secundário das plantas, formados principalmente por monoterpenos. A produção de óleos essenciais não depende somente de fatores genéticos ou da fase de desenvolvimento das plantas, mas também de diversos fatores ambientais que influenciam em alterações bioquímicas e fisiológicas. Essas alterações modificam a quantidade e a qualidade do óleo essencial, impactando e prejudicando também o aroma produzido pela planta. (Gobbo-Neto e Lopes, 2007).

Todavia, os óleos essenciais são uma mistura de diferentes compostos complexos, podendo conter cerca de 20 a 60 componentes em variadas concentrações. Suas características correspondem a dois ou três componentes encontrados em grandes concentrações, sendo denominados de compostos majoritários e responsabilizando-se por 20 a 70% de sua composição em relação aos outros componentes que são encontrados em pequenas quantidades. (Bakkali et al., 2008). Apresentam-se como moléculas lipofílicas, ou seja, insolúveis em água e solúveis em componentes orgânicos. Em temperatura ambiente, apresentam-se como líquidos oleosos e muito voláteis, o que os diferencia de

outros óleos fixos. De modo geral, os óleos essenciais são instáveis, principalmente na presença de ar, metais, umidade, luz e calor. (Gomes, 2015).

Para as plantas, além de serem as produtoras, seus benefícios envolvem vantagens de sobrevivência, como melhor germinação ou resistência à pestes. Para os seres humanos, sua utilização está relacionada mais diretamente com aplicações farmacológicas e industriais. (Baser e Buchbauer, 2015). Há muitas décadas, os óleos essenciais têm sido amplamente estudados e utilizados devido às suas aplicações antibacterianas, antioxidante, antifúngicas, inseticidas, cosméticas e medicinais. Indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas têm dado uma atenção especial aos óleos essenciais por seu método de extração através de plantas aromáticas e sua variedade de moléculas voláteis, proporcionando-lhe assim características que os tornem úteis como conservantes, antioxidantes e aromatizantes. (Bakkali et al., 2008).

Os óleos essenciais dos citrus, mais especificamente da laranja, é extraído das cascas, a qual é considerada um subproduto das indústrias. Uma das consequências das atividades das indústrias de alimentos é a geração de resíduos, cuja destinação pode ser um problema quando mal gerenciada, podendo apresentar riscos ao meio ambiente e à saúde da população. Conforme Lei nº 12.305 de agosto de 2010 da Política Nacional de Resíduos e Sólidos, para que um resíduo seja considerado rejeito é preciso que todas as alternativas de aproveitamento tenham sido esgotadas. (Brasil, 2010). Sendo assim, demonstra-se cada vez mais necessário o desenvolvimento e aplicação de tecnologias que utilizem o aproveitamento e transformação desses resíduos em coprodutos.

As indústrias que produzem suco de laranja são exemplos dessa realidade. De acordo com a FAO, a produção de laranja cresce a cada ano e o Brasil é o maior produtor mundial. (Faostat, 2012). Após a extração do suco, muitos resíduos são descartados, como cascas, sementes e polpas, todavia, esses resíduos ainda não são rejeitos, podendo ser aproveitados para obtenção de novos produtos ou substâncias com alto valor nutricional, como o óleo essencial. (Farhat et al., 2011).

O Brasil destaca-se na produção dos óleos essenciais cítricos, e encontra-se entre os quatro grandes produtores mundiais, o que se deve ao fato do óleo ser um subproduto da indústria de sucos. (Jacob et al., 2017). De acordo com Tranchida et al. (2012), em relação a aspectos econômicos e sustentáveis, considerando o mercado brasileiro e mundial, a produção de óleo essencial no Brasil não somente é viável, mas também é rentável. A utilização de óleos essenciais nas indústrias, e especificamente a alimentícia, apresenta grande potencial em desenvolvimento. Sua aplicação como ingrediente funcional na formulação tem despertado grande interesse devido ao aumento da exigência dos consumidores por produtos mais naturais, buscando melhor qualidade de vida. Conforme o projeto Brasil Food Trends 2020, as tendências do mercado da alimentação estão voltadas para a sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem-estar, conveniência e praticidade, confiabilidade e qualidade, sustentabilidade e ética. Neste contexto, surgiu o conceito de produtos *clean label*, um

movimento de mercado que está associado à busca por alimentos mais saudáveis, ingredientes naturais e rótulos limpos e de fácil entendimento (Hamerski, Rezende e Silva, 2013; Silva, 2014).

Considerando esta importante tendência de utilizar ingredientes mais naturais e funcionais no desenvolvimento de produtos, o presente trabalho teve por objetivo extrair o óleo essencial da casca laranja e utilizá-lo como um ingrediente natural na formulação de uma gelatina, substituindo os conservantes, aromatizantes e saborizantes artificiais, assim como melhorar as propriedades nutricionais devido ao poder antioxidante do óleo essencial.

Materiais e Métodos

A seguir, foi descrito a metodologia utilizada para a realização da pesquisa, desde o material vegetal usado até o desfecho - análise sensorial de um produto natural utilizando o óleo essencial.

Material Vegetal

As cascas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (laranja doce) foram adquiridas na feira de orgânicos de Porto Alegre, RS.

Reagentes

Para realização das análises deste estudo foram utilizados os seguintes reagentes: ABTS (2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6- sulfônico)) (Sigma-Aldrich); Dimetil sulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich); DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) (Sigma-Aldrich); Etanol (Química Moderna); Éter etílico (Merck); Metanol (Sigma-Aldrich).

Extração do Óleo Essencial (OE)

O óleo essencial foi obtido das cascas frescas da laranja, que foram anteriormente lavadas, reduzidas com auxílio de triturador mecânico, misturadas com 1000 mL de água destilada e submetidas a hidrodestilação, utilizando o aparelho Clevenger, durante 4 h (Anvisa, 2010). O óleo foi retirado com auxílio de uma pipeta de Pasteur e armazenado em recipiente de vidro âmbar e mantido em freezer doméstico a -4 °C até realização das análises.

Determinação da composição química do óleo essencial por CG-EM

A identificação e quantificação dos compostos do óleo essencial foi realizada através de análise cromatográfica, segundo metodologia descrita por Hussain et al. (2010), com algumas modificações. O óleo foi diluído em éter etílico e submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O aparelho utilizado foi o cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu GC-2010 Plus acoplado ao espectrômetro de massas da marca Shimadzu GCMS-

QP2010Ultra, equipado com um autoinjeter Shimadzu AOC-20i. Os compostos foram separados utilizando uma coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 x 0,25 μm). As temperaturas do injeter e do detector foram fixadas em 220 e 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada de 80 a 220 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Como gás carreador foi utilizado Hélio com fluxo constante de 1,5 mL/min. Para detecção de MS, utilizou-se um modo de ionização de elétrons com energia de ionização de 70 eV. As temperaturas da linha de transferência do injeter e do MS foram ajustadas em 220 e 290 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Uma alíquota de 1,0 μL foi injetada, usando o modo split (split ratio, 1:40). Para a identificação dos componentes do óleo essencial foram calculados os Índices de Kovats, baseado na comparação de seus índices de retenção em relação aos n-alcanos (C8-C20, Sigma). Os compostos foram posteriormente identificados e autenticados usando seus dados do Espectro de Massa (EM) em comparação com a biblioteca de EM NIST11 e os EM publicados na literatura. (ADAMS, 2017).

Avaliação da Atividade Antioxidante

Para a avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial foram aplicados dois ensaios que se baseiam na captura de radicais livres, ABTS^{•+} e DPPH. Ambos os ensaios foram realizados em triplicata e traçada uma curva linear entre o percentual de inibição dos radicais e a concentração do óleo, obtendo-se o valor de concentração necessária do antioxidante para reduzir 50% o radical (IC50). O percentual de inibição dos radicais livres foi calculado através da seguinte equação:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = (\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}) \times 100 / \text{Abs}_{\text{controle}}$$

Onde: $\text{Abs}_{\text{controle}}$ é a absorbância do radical ABTS + metanol; $\text{Abs}_{\text{amostra}}$ é a absorbância do radical ABTS + amostra.

Método ABTS^{•+}

A aplicação do método de captura do radical ABTS^{•+} foi baseada na metodologia descrita por Re et al. (1999), com algumas modificações. O óleo essencial foi utilizado em diferentes concentrações, diluídos em metanol. Decorrido o tempo de reação, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (ExpectraMax M5/Molecular Devices, Sunnyvale, CA) a 734 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Método DPPH

A avaliação da atividade antioxidante diante do consumo de DPPH[•] foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Willians, Cuvelier e Berset (1995) com algumas modificações. O

método consiste em avaliar a atividade sequestradora de DPPH^{*} na concentração de 0,1 mM, que é um radical estável, de coloração púrpura e absorve em um comprimento de onda de 517 nm.

Para o cálculo da atividade antioxidante, construiu-se também uma curva padrão de Trolox e será substituído o valor de y na equação da reta pelo percentual de inibição calculado a partir da absorvância encontrada para cada padrão. A atividade antioxidante experimentos foram realizados em triplicata.

Nas análises espectrofotométricas, foram utilizados os parâmetros IC50 (concentração inibitória) e IP (percentual de inibição). A IC50 foi definida como a quantidade da mostra ($\mu\text{L}/\text{mL}$) a qual produziu uma diminuição de 50% na concentração inicial do DPPH e ABTS. Já o IP foi definido como o percentual total de DPPH e ABTS que reagiu com a amostra antioxidante (Hess e Zanini, 2009).

Desenvolvimento do Produto

O produto desenvolvido foi uma gelatina natural sabor laranja. O óleo essencial extraído foi adicionado em gelatina natural para substituir os aromatizantes, saborizantes e conservantes artificiais, assim como aumentar as propriedades nutricionais devido ao poder antioxidante dos óleos essenciais. Para obter a coloração laranja, foi utilizado corante natural Shade Lemon Yellow (Exberry®).

Os óleos essenciais têm o sabor somente de sua essência, por isso, foi adicionado açúcar demerara na formulação. Os testes foram feitos em concentrações 10%, 15%, 20%, 30%, 50% e 60% de açúcar demerara. As quantidades de corante e óleo essencial também foram testadas até obter-se um produto com consistência, coloração e aroma ideais. As quantidades de óleo essencial foram testadas em 1%, 2%, 5% e 10%. O corante foi submetido à testes nas concentrações de 0,5%, 1% e 1,5%. Conforme a quantidade de corante aumentava, a coloração não alterava significativamente. Para melhor avaliação, foi realizada uma análise sensorial prévia com 10 participantes, os quais, quase em sua totalidade, preferiram as seguintes concentrações: 15% de açúcar demerara, 2% de óleo essencial e 0,5% de corante.

Desta maneira, a gelatina desenvolvida apresentou as seguintes características: 15% de açúcar demerara, 2% de óleo essencial e 0,5% de corante natural dissolvidos em cada sachê de gelatina natural sem sabor (1 sachê de 12 g de gelatina natural dissolvido em 500ml de água filtrada). Para avaliar a aceitação do produto, foi preparada uma gelatina artificial sabor laranja e aplicado o teste de análise sensorial em escala hedônica entre as duas amostras. A gelatina artificial sabor laranja foi adquirida em um mercado de Porto Alegre – RS e seu preparo foi realizado conforme as instruções do fabricante.

Análise Sensorial

Para a avaliação do produto desenvolvido, foi aplicado o Teste de Diferença de Atributos (direcional), utilizando como ferramenta a comparação pareada (ASTM - E2164 - 08 e ISO 5495:2005), a qual tem como objetivo identificar se uma amostra apresenta em maior intensidade certo atributo sensorial do que a outra amostra. Consiste então na apresentação de duas amostras diferentes ao avaliador, o qual julgará em qual delas predomina certa característica previamente definida. Esse teste é conhecido também como 2-AFC (Alternative Forced Choice). (Dutcosky, 2013).

Como método descritivo para os testes, foram considerados os aspectos qualitativos das amostras, como as características de aparência (cor e textura visual), aroma (sensações olfatórias e nasais), sabor (sensações de gosto e bucais) e textura oral (umidade do produto e propriedades mecânicas e geométricas). Também foram considerados aspectos quantitativos das amostras, como o teste de escala, onde o avaliador classifica conforme o grau de intensidade de cada atributo presente na amostra. (Dutcosky, 2013). O grupo de participantes foi uma amostra aleatória de 60 alunos da UNISINOS.

As análises foram realizadas no laboratório de análise sensorial da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, com 60 participantes não treinados e idades variadas entre 20 e 40 anos. Cada participante recebeu uma folha contendo uma escala hedônica de 1 a 7, sendo 1 - desgostei muitíssimo; 2 - desgostei muito; 3 - desgostei moderadamente; 4 - nem desgostei/ nem gostei; 5 - gostei moderadamente; 6 - gostei muito e 7 - gostei muitíssimo. Abaixo, havia uma tabela separando a amostra 592 (gelatina natural) e amostra 595 (gelatina artificial), contendo os aspectos que foram avaliados (aparência, aroma, textura e sabor). Os participantes analisaram e classificaram entre 1 a 7. Para que não houvesse confusão entre os aspectos das amostras, os participantes receberam um copo com água e beberam entre a degustação de cada amostra, a fim de limpar o paladar para melhor avaliação.

O Índice de Aceitabilidade (I.A) também foi determinado através das notas de cada atributo. O I.A é uma avaliação referente à aceitação do consumidor ao produto desenvolvido através de um cálculo que leva em consideração a nota média de cada atributo e a nota mais alta obtida no atributo avaliado. Esses cálculos foram determinados para ambas gelatinas (natural e artificial).

Aspectos Éticos

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNISINOS sob o número 2.018.708. Os indivíduos que participaram da pesquisa receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o qual contempla todos os aspectos mencionados no item IV da Resolução Conselho Nacional de Saúde 466/12, com o objetivo de informar propósito e dados da pesquisa aos indivíduos participantes, solicitando o consentimento dos mesmos.

Resultados e Discussões**Análise dos Constituintes do Óleo Essencial**

Pelo método por Cromatografia Gasosa (CG), foram identificados os principais constituintes do óleo essencial da casca da laranja, como mostra o Quadro 1, sendo D-limoneno o componente majoritário (91,4%). Os constituintes beta-mirceno (2,46%), β -Linalool (1,52%) e octanal (1,05%) também são considerados componentes majoritários em relação aos demais constituintes, apesar de sua baixa concentração encontrada.

Quadro 1. Componentes identificados no óleo essencial da casca de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck através da Cromatografia Gasosa (CG)

| Componentes | Conc. | Tempo (min) | Peso molecular | Área | m/z |
|------------------------|---------|-------------|----------------|--------------|--------|
| Beta-Felandreno | 0,732% | 4,139 | 55101 | 89955 | 93,00 |
| Beta-Mirceno | 2,469% | 4,386 | 182627 | 303621 | 41,00 |
| Octanal | 1,051% | 4,632 | 76213 | 129255 | 43,00 |
| D-Limoneno | 91,399% | 5,299 | 4809781 | 112390 09 | 68,00 |
| 1-Octanol | 0,515% | 6,206 | 30043 | 63358 | 56,00 |
| Linalool | 1,527% | 7,015 | 87262 | 187771 | 71,00 |
| 4-Terpinil acetato | 0,235% | 9,379 | 12692 | 28921 | 71,00 |
| α -Terpineol | 0,292% | 9,777 | 14060 | 35881 | 59,00 |
| Decanal | 0,364% | 10,158 | 18694 | 44779 | 57,00 |
| (2E,6Z)-2,6-octadienal | 0,251% | 11,315 | 12508 | 30858 | 41,00 |
| Citral | 0,473% | 12,248 | 22349 | 55694 | 69,00 |
| Hidroxitolueno | 0,712% | 19,755 | 31932 | 87567 | 205,00 |

Um estudo que identificou os componentes do óleo essencial da casca da laranja, assim como avaliou sua atividade antifúngica, encontrou também Limoneno (96,6%) como principal componente majoritário, sendo seguido de beta-Mirceno (1,72%) e beta-Pineno (0,53%). (Velázquez-Nuñez et al., 2013). Espina et al. (2011) realizaram um estudo com as cascas de laranja da Espanha, e identificaram 65 componentes através da CG, sendo os majoritários limoneno (85,5%), óxido de cis-limoneno (1,03%) e mirceno (0,92%). O estudo que avaliou as influências de genótipos sobre a composição

química dos óleos essenciais de citrus, encontrou limoneno (96,3%) e beta-pineno (1,45%), além de outros 70 componentes. (Hosni et al., 2010).

Avaliação da Atividade Antioxidante

Em análises da atividade antioxidante recomenda-se a utilização de dois ou mais ensaios a fim de reconhecer variâncias na resposta dos compostos obtidos na extração, visto que estão envolvidas diferentes características e reações em cada método. Por isso, neste estudo foram utilizados dois métodos, ABTS e DPPH (Denardin et al., 2015). Pela ação de um antioxidante, esses radicais são reduzidos, causando um decréscimo de absorbância. Sendo assim, a partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante, ou seja, a quantidade de DPPH e ABTS que foram consumidas pelo antioxidante. (Oliveira et al., 2009).

Nas análises espectrofotométricas, foram utilizados os parâmetros IC₅₀ (concentração inibitória) e IP (percentual de inibição) para determinar o poder antioxidante da amostra, sendo IC₅₀ a quantidade de material antioxidante necessário para diminuir 50% da concentração inicial do radical DPPH e ABTS e IP o percentual total de radical DPPH e ABTS que reagiu com a amostra antioxidante até alcançar o estado estacionário. (Hess e Zanini, 2009).

Desta maneira, foi possível observar que o IC₅₀ no teste de DPPH ocorreu na concentração de 0,02 µmol ET/mL e o IP em 0,03 µmol ET/mL, alcançando inibição de 81,45%. No teste de ABTS, o IC₅₀ ocorreu em torno de 11 µmol ET/L e o IP em 20 µmol ET/L, alcançando inibição de 94,64%. Esses resultados demonstram que o óleo essencial tem capacidade antioxidante devido à redução dos radicais.

Choi et al. (2000) avaliaram a atividade antioxidante de 34 tipos de óleos essenciais de citrus através do método DPPH. Do total, 31 deles eram comparáveis ou superiores ao Trolox, sendo o óleo essencial de limão Ichang (64,0%), limão Taiti (63,2%) e limão Eureka (61,8%) os mais poderosos antioxidantes. Singh et al. (2010) analisaram o perfil químico dos óleos essenciais de *Citrus maxima* Burm. e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, utilizando também o método DPPH como parâmetro antioxidante. O IC₅₀ de *C. máxima* foi de 8,85 µl/mL, enquanto de *C. sinensis* foi de 9,45 µl/mL. O IP encontrado para ambas amostras foi em concentração de 10 µl/mL, alcançando inibição em torno de 60%. Tundis et al. (2012) avaliaram a capacidade antioxidante de *Citrus aurantifolia* Swingle, *C. aurantium* L. e *C. bergamia* Risso através do método ABTS, sendo o óleo de *C. aurantifolia* o que apresentou maior atividade inibitória de radicais (IC₅₀ = 19,6 µg/mL).

A mensuração do poder antioxidante das substâncias depende do método escolhido, assim como da concentração e das propriedades físico-químicas estudadas. Por isso, alguns resultados podem desencontrar-se ou serem confirmados conforme alterações de concentrações e parâmetros avaliativos. (Kulisic et al., 2004). Os dados obtidos, assim como publicações prévias na literatura, demonstram o

grande potencial dos óleos essenciais, sugerindo o seu uso como uma fonte natural de antioxidantes devido às suas propriedades funcionais.

Análise sensorial

Para o setor de alimentos, a avaliação da aceitabilidade mercadológica e qualidade do produto é realizada através de análise sensorial. Todavia, por ser executada por pessoas, é importante ser cauteloso na preparação das amostras quanto a fatores que podem influenciar nas análises, como fatores psicológicos que remetem a conceitos pré-formados. (Teixeira, 2009).

Para avaliar a aceitação do produto de acordo com os consumidores, foi aplicado o teste através de escala hedônica, conforme Figura 1. Quanto ao sabor, 43 avaliadores deram notas entre 6 (gostei muito) e 7 (gostei muitíssimo). Quanto ao aroma, 52 avaliadores deram essas mesmas notas, o que remete à uma avaliação muito positiva referente a esses atributos. A textura do produto também foi bem avaliada, sendo que 49 avaliadores deram notas entre 6 e 7 para esse atributo. Quanto à aparência, não obteve-se o mesmo sucesso. Devido à coloração esverdeada do produto, 12 avaliadores deram nota 3 (desgostei moderadamente), sendo esta a menor nota obtida. Apenas 26 avaliadores deram notas 6 e 7 à esse atributo.

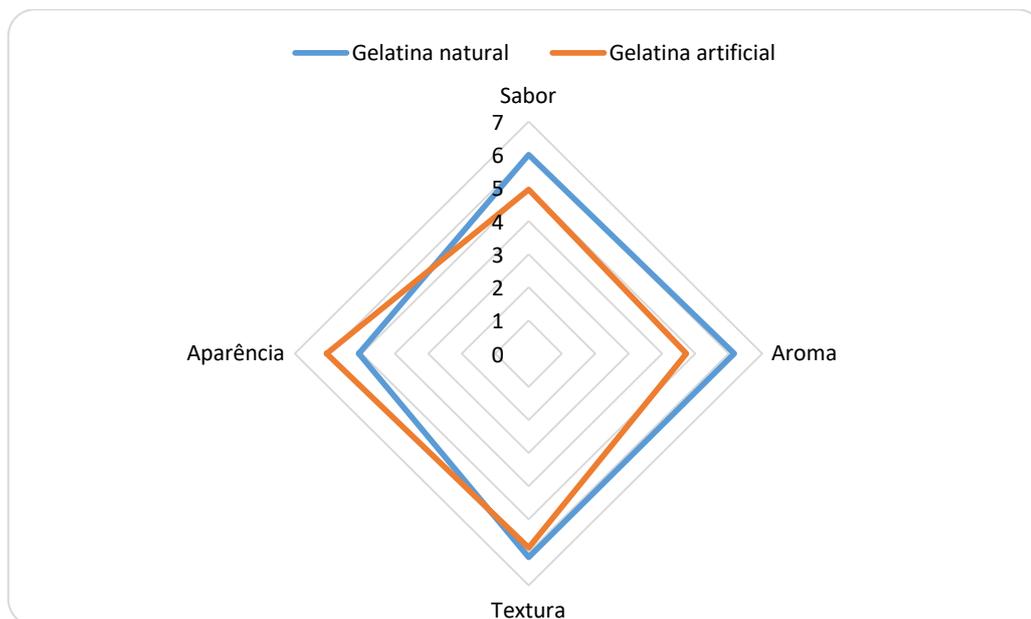


Figura 1. Gráfico com as notas médias dos avaliadores para os atributos sabor, aroma, textura e aparência

A primeira avaliação de um produto começa pelos olhos. As cores influenciam na análise sensorial de um alimento, tanto positiva quanto negativamente. Influenciam no que diz respeito à avaliação de sabores e também na medição de aceitabilidade de um novo produto. (Teixeira, 2009). Sendo assim, acredita-se que a baixa aceitabilidade dos avaliadores referente à aparência é devido a

coloração mais esverdeada do produto. A escolha do corante, juntamente com a cor do açúcar demerara, colaboraram para obter-se essa coloração. Desta forma, avalia-se a aparência como um aspecto a ser melhorado na pesquisa, para maior aceitação do consumidor.

Teixeira, Meinert, Barbeta (1987) propõem um método de avaliação quanto à aceitação do consumidor referente ao produto desenvolvido. Desta maneira, determina-se o Índice de Aceitabilidade (I.A) de cada atributo através do cálculo:

$$I.A (\%) = \frac{(a \times 100)}{b}$$

Onde:

I.A = Índice de Aceitabilidade

a = Nota média do atributo

b = Nota mais alta obtida no atributo avaliado

Os cálculos de I.A foram determinados tanto para a gelatina desenvolvida (natural), quanto para a gelatina artificial, comparando-as do ponto de vista do consumidor. A gelatina natural obteve as melhores notas em todos atributos, com exceção da aparência (Figura 2). De acordo com Teixeira (2009), para que o produto seja considerado aceito, em termos de propriedades sensoriais, é necessário que o I.A seja, no mínimo, de 70%. Sendo assim, observa-se conforme Figura 2 que a gelatina natural obteve aceitação em todos os atributos, inclusive na aparência, mesmo sendo o aspecto pior avaliado. Comparando a avaliação global dos dois produtos, nota-se que a gelatina natural apresenta melhor qualidade e melhor aceitabilidade do que a gelatina artificial.

No Quadro 2, observa-se a comparação das notas médias entre as duas amostras. Quanto aos atributos avaliados, todos tiveram diferenças estatisticamente significativas, sendo as melhores notas para gelatina 2% óleo essencial em relação aos atributos aroma, sabor e textura. A gelatina artificial foi melhor avaliada somente quanto à aparência, o que demonstra maior aceitação do produto desenvolvido quando comparado ao produto artificial já comercializado.

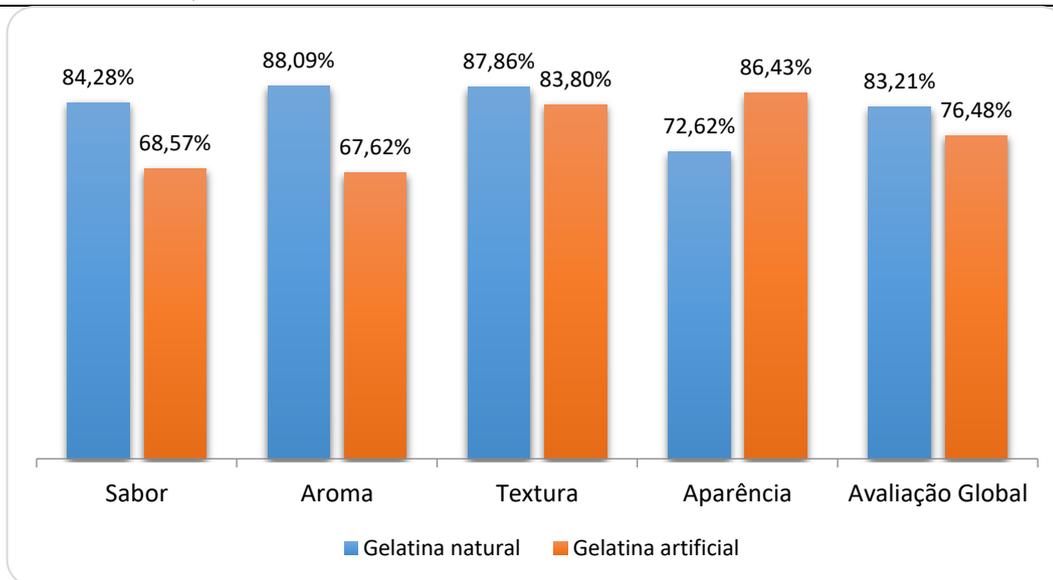


Figura 2. Índice de Aceitabilidade (I.A) por atributo sensorial

Quadro 2. Comparação de médias dos atributos sensoriais aparência, odor, sabor e cor das gelatinas sabor laranja avaliadas

| Atributos | Amostras ^a | |
|------------|-----------------------|---------------------|
| | Gelatina natural | Gelatina artificial |
| Aparência* | 5,083 ± 1,369 | 6,050 ± 0,946 |
| Aroma* | 6,167 ± 0,693 | 4,733 ± 1,274 |
| Textura* | 6,150 ± 0,899 | 5,867 ± 1,016 |
| Sabor* | 5,900 ± 1,100 | 4,800 ± 1,471 |

Fonte: elaborado pelas autoras.

Legenda: ^aValores apresentados como média ± coeficiente de variação. *Diferença significativa entre médias da amostra gelatina natural e gelatina artificial de acordo com o teste T de Student (P<0,05).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) define a análise sensorial como um método científico usado para evocar, medir, analisar e interpretar reações quanto à características de determinados alimentos, os quais são percebidos pelos sentidos de visão, tato, olfato, audição e paladar. Lazzarotto et al. (2008) desenvolveram uma bala de gelatina contendo povidona como fibra alimentar, e avaliaram a aceitabilidade através de análise sensorial por testes de preferência utilizando-se a escala hedônica.

Berté et al. (2011) desenvolveram formulações de gelatinas funcionais utilizando o extrato de erva-mate verde e fibras solúveis, como inulina, frutooligossacarídeos e povidona. Como método de avaliação, realizaram as análises químicas e utilizaram a análise sensorial para avaliar sabor e

preferência de compra, aplicando o teste de comparação múltipla com escala hedônica de 9 pontos. Em um outro estudo, foi realizada a adição de gelatina em barras de chocolate ao leite nas concentrações de 5, 10 e 15%, visando a obtenção de chocolates artesanais com teores reduzidos de gorduras. Os testes foram realizados com 1, 15 e 30 dias de fabricação, através de análise sensorial e avaliados por escala hedônica. (Schneider e Souza, 2009).

Desta forma, aponta-se a grande relevância da análise sensorial para avaliação de produtos, principalmente na atuação de desenvolvimento de novos produtos, testando assim a aceitabilidade do consumidor e a demanda do produto desenvolvido no mercado alimentício.

Conclusão

Os óleos essenciais têm ganhado espaço nas indústrias alimentícias e farmacêuticas devido às suas atividades antioxidantes, antimicrobianas e terapêuticas. Nos citrus, além de suas propriedades benéficas, outro ponto positivo relaciona-se ao aproveitamento de alimentos, visto que sua extração é obtida através da casca das frutas.

Esta pesquisa reforçou, através de análises químicas e sensoriais, o importante papel dos óleos essenciais na alimentação, podendo ser utilizado como um ingrediente bioativo. As análises de capacidade antioxidante demonstraram esses resultados, alcançando 81,45% de inibição do Trolox pelo método DPPH e 94,64% de inibição pelo método ABTS. O IC₅₀ no teste de DPPH ocorreu na concentração de 0,02 µmolET/mL e o IP em 0,03 µmolET/mL, e no teste de ABTS, o IC₅₀ ocorreu em torno de 11 µmolET/L e o IP em 20 µmolET/L. Quando realizada as análises químicas referente aos componentes do óleo essencial da casca da laranja, o D-Limoneno (91,4%) e beta-Mirceno (2,46%) foram encontrados como componentes majoritários.

Quanto às análises sensoriais, o produto desenvolvido teve avaliação global de 83,21%, indicando boa aceitação pelos consumidores. As notas em escala hedônica para aroma, sabor e textura ficaram entre as mais altas (6 e 7). No atributo aparência, as notas foram mais baixas, sendo 5 a nota. Acredita-se que isso ocorreu devido à escolha errada do corante, assim como a adição de açúcar demerara, que mesmo sendo nutricionalmente melhor, alterou a cor do produto.

Desta maneira, conclui-se que os óleos essenciais são uma excelente alternativa para as indústrias alimentícias, pois podem substituir aromatizantes e conservantes artificiais. A gelatina industrializada demonstrou que a aceitação da gelatina natural foi maior, visto que os aspectos sensoriais são melhorados com a substituição, e sobretudo, agregando maior valor nutricional.

Apesar desta pesquisa não ter trazido parâmetros microbiológicos, existe uma gama de estudos demonstrando a utilização dos óleos essenciais como antimicrobianos, inclusive em leveduras deteriorantes de alimentos. O valor nutricional agregado devido às propriedades antioxidantes, a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos e o aroma atenuado por ser uma substância

bioativa concentrada tornam os óleos essenciais uma alternativa muito interessante para as indústrias de alimentos, principalmente para aquelas que se preocupam em proporcionar produtos com maior qualidade e inovação aos seus consumidores.

O desenvolvimento de novos produtos utilizando os óleos essenciais é amplo e muito aplicável, podendo ser substituído de diversos aromatizantes e conservantes artificiais. Além disso, é válido sempre enfatizar que os óleos essenciais de citrus são extraídos das cascas, ou seja, um subproduto que normalmente é descartado em grandes quantidades sem reaproveitamentos. A extração também é feita de uma forma limpa e segura para a saúde, utilizando somente água, sem solventes orgânicos. Contudo, é necessário que a escolha do óleo essencial seja feita de forma cautelosa, pois por ser uma substância muito concentrada, o aroma e o sabor característicos do fruto, raiz ou planta do qual foi extraído permanecem de forma acentuada.

Os resultados deste trabalho demonstraram o importante papel que os óleos essenciais podem apresentar para as indústrias como uma nova alternativa de aditivo natural. Assim como demonstrou que é viável ser aplicado no desenvolvimento de novos produtos, pois melhoram também os aspectos sensoriais, apresentando aceitabilidade do consumidor.

Referências

- ADAMS, R. P. 2012. *Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy*. São Diego, Academic Press, 4.1 ed, 302p.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). 2010. *Farmacopeia Brasileira*, 5. ed. Brasília, Fundação Oswaldo Cruz, 545p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). 1993. *Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia*. Rio de Janeiro, ABNT, 29p.
- BAKKALI, F. et al. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, **46**(2):446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- BASER, K.H.C e BUCHBAUER, G. 2015. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Flórida, CRC Press, 1112p.
- BERTÉ, K.A.S. et al. 2011. Desenvolvimento de gelatina funcional de erva-mate. *Ciência Rural*, **41**(2):354-60. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000200029>
- BRASIL. 2012. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2010/Lei/L12305.htm>
- BRAND-WILLIAMS, M.; CUVELIER, M.E; BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology - Lebensmittel-Wissenschaft & Technologies*, **28**(1): 25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

CHOI, H.S. et al. 2000. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**(9): 4156-4161. <https://doi.org/10.1021/jf000227d>

DENARDIN, C. et al. 2015. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*, **23** (3): 387 – 398. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.006>

DUTCOSKY, S.D. 2013. *Análise sensorial de alimentos*. Paraná, PUCPress, 244p.

ESPINA, L. et al. 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, **22**(6):896-902. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.021>

FARHAT, A. et al. 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food and Bioprocess Technology*, **125**(1): 255-261. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.110>

GOBBO-NETO, L. e LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Revista Química Nova*, **30**(2):374 -381. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>

GOMES, M.S. 2015. *Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero Citrus*. Lavras, MG. Tese de doutorado. Universidade Federal de Lavras, 99p. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130035>

HESS, S.C e ZANINI, P.B. 2009. *Estudos químicos e avaliação da atividade antioxidante de Vernonia Scabra*. Santa Maria, RS. Universidade Federal de Santa Maria, 16p.

HOSNI, K. et al. 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, **123**(4):1098-1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.068>

HUSSAIN, A. I. et al. 2010. *Rosmarinus officinalis* óleo essencial: antiproliferativo atividades antioxidantes e antibacterianas. *Brazilian Journal of Microbiology*, **41**(1):1070-1078. 2010. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400027>

JACOB, R. G et al. 2017. Óleos Essenciais como Matéria-Prima Sustentável para o Preparo de Produtos com Maior Valor Agregado. *Revista Virtual Química*, **9** (1).

KULISIC, T. et al. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, **85**(4):633-640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024>

LAZZAROTTO, E. et al. 2008. Bala de gelatina com fibras: caracterização e avaliação sensorial. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, **2**(1):22-34. <https://doi.org/10.3895/S1981-36862008000100003>

OLIVEIRA, A.C. et al. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, **32**(3):689-702. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300013>

RE, R. et al. 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, **26**(9):1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

SCHNEIDER, A.L. e SOUZA, C.F.V. 2009. Estudo da adição de gelatina à barra de chocolate ao leite. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, **3**(1):15-27. <https://doi.org/10.3895/S1981-36862009000100002>

SIMOES, C.M.O. 2010. *Farmacognosia: da planta ao medicamento* 6. ed. Porto Alegre, UFRGS, 1104p.

SINGH, P. et al. 2010. *Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of Citrus maxima Burm. and Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. Food and Chemical Toxicology*, **48**(6):1734-1740. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.001>

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETA, P. A. 1987. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis, editora da UFSC, 225p.

TEIXEIRA, L.V. 2009. Análise sensorial na indústria de alimentos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, **64**(366):12-21.

TUNDIS, R. et al. 2012. Comparative study on the antioxidant capacity and cholinesterase inhibitory activity of *Citrus aurantifolia Swingle*, *C. aurantium L.*, and *C. bergamia Risso and Poit.* peel essential oils. *Journal of Food Science*, **7** (1):40-46 <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02511.x>

TRANCHIDA, P. Q. et al. 2012. Analysis of citrus essential oils: state of the art and future perspectives. a review. *Flavour Fragrance Journal*, **27**(2): 98–123. <https://doi.org/10.1002/ffj.2089>

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M.J et al. 2013. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. *Valencia*) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, **31**(1): 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.029>

Submetido: 16/10/2018

Aceito: 26/11/2018