

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES

URI - CAMPUS ERECHIM

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ILIZANDRA APARECIDA FERNANDES

**OXIDAÇÃO DE VALENCENO PRESENTE NA FASE OLEOSA
CONCENTRADA DE LARANJA UTILIZANDO COMPLEXOS
BIOMIMÉTICOS**

ERECHIM, RS - BRASIL

FEVEREIRO DE 2009.

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**OXIDAÇÃO DE VALENCENO PRESENTE NA FASE OLEOSA
CONCENTRADA DE LARANJA UTILIZANDO COMPLEXOS
BIOMIMÉTICOS**

ILIZANDRA APARECIDA FERNANDES

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL

FEVEREIRO DE 2009.

OXIDAÇÃO DE VALENCENO PRESENTE NA FASE OLEOSA CONCENTRADA DE LARANJA UTILIZANDO COMPLEXOS BIOMIMÉTICOS

Ilizandra Aparecida Fernandes

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

José Vladimir de Oliveira, D.Sc.
(Orientador)

Marcos Lúcio Corazza, D.Sc.
(Orientador)

Maria Carolina Esmelindro Rodrigues, D.Sc.
(Orientadora)

Papa Matar Ndiaye, D.Sc.

Marco Di Luccio, D.Sc.

Erechim, 26 de fevereiro de 2009.

F363o Fernandes, Ilizandra Aparecida

Oxidação de valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando complexos biomiméticos / Ilizandra Aparecida Fernandes. – 2009.

71 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2009.

“Orientação: José Vladimir de Oliveira, Marcos Lúcio Corazza, Maria Carolina Esmelindro Rodrigues”.

1.Valenceno 2. Óleos essenciais 3. Laranja I. Título

CDU: 664

Catálogo na fonte: Sandra Milbrath CRB10/1278

Aos meus pais, Angelin e Arnestina
pelo carinho e apoio para a
realização deste trabalho.

Ao meu amado Luciano, pela atenção,
carinho, e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A deus por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente e superar todos os obstáculos que surgiram ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la dignamente, protegendo-me, incentivando-me e me apoiando, ofereço o mérito de mais esta conquista.

Às minhas irmãs Fernanda e Franciele pelas horas alegres, carinho e atenção.

Ao meu namorado pela paciência, companheirismo e apoio nas horas difíceis.

Aos meus orientadores José Vladimir de Oliveira, Marcos Lúcio Corazza e Maria Carolina Esmelindro Rodrigues, pela dedicação, amizade, confiança e conhecimento.

A todos os professores do Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Alimentos da URI, Campus Erechim.

Aos amigos e colegas, em especial a minha grande amiga Mara.

À empresa Aripe- Biocitrus LTDA, pela doação da fase oleosa concentrada de laranja, utilizada no presente trabalho.

Gostaria de agradecer à Universidade pela estrutura que sempre esteve a minha disposição.

A todos que de alguma forma colaboraram para realização deste trabalho.

"Tudo é possível quando se quer.
Sem luta não há glória."

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

OXIDAÇÃO DE VALENCENO PRESENTE NA FASE OLEOSA CONCENTRADA DE LARANJA UTILIZANDO COMPLEXOS BIOMIMÉTICOS

Ilizandra Aparecida Fernandes

Fevereiro/2009

Orientadores: José Vladimir de Oliveira

Marcos Lúcio Corazza

Maria Carolina Esmelindro Rodrigues

O objetivo do presente trabalho foi estudar a oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja em nootkatona e nootkatol. Foram investigados os efeitos da temperatura, concentração de catalisador e concentração de oxidante nas reações de oxidação do valenceno, utilizando os complexos biomiméticos de ferro $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$, cobre $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ e cobalto $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$ como catalisadores. Testes de atividade catalítica dos complexos foram realizadas através de reações de oxidação do valenceno utilizando peróxido de hidrogênio (H_2O_2 -30% em água) como oxidante e acetonitrila como solvente. Foi elaborado um planejamento experimental, onde o tempo de reação permaneceu constante (8 horas). Estudos cinéticos foram conduzidos para avaliar o comportamento da concentração de catalisador frente ao rendimento de nootkatona. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-MS). Os resultados do planejamento experimental e

do estudo cinético demonstraram que os complexos de ferro e cobalto foram os mais eficientes na oxidação de valenceno a nootkatona. A maior concentração de nootkatona (7,42%) foi obtida a 70°C, em 16 horas de reação, com uma concentração de oxidante e catalisador de 4,62 mol.L⁻¹ e 3,0x10⁻³ mol.L⁻¹, respectivamente.

Abstract of Dissertation presented to Program of Food Engineering as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

OXIDATION OF VALENCENE FROM CONCENTRATED ORANGE OIL PHASE USING BIOMIMETICS COMPLEXES

Ilizandra Aparecida Fernandes

February/2009

Advisors: José Vladimir de Oliveira

Marcos Lúcio Corazza

Maria Carolina Esmelindro Rodrigues

The objective of this work was to study the oxidation of valencene present in the concentrated oil phase of orange in nootkatone and nootkatol. The temperature, concentration of catalyst and oxidant were investigated using the biomimetic complexes of iron $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$, copper $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ and cobalt $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$ as catalysts. Tests of catalytic activity of the complexes were made by oxidation reactions of valencene using hydrogen peroxide (H_2O_2 -30% in water) as oxidant and acetonitrile as solvent. An experimental design was developed, keeping the reaction time constant (8 hours). Kinetic studies were carried out to evaluate the effect of the concentration of catalyst on the yield of nootkatone. The samples were analyzed by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS) detector. The results of the experimental design and kinetic study showed that the complexes of iron and cobalt were the most efficient in the oxidation of valencene to nootkatone. The highest concentration of nootkatone (7.42%) was obtained at 70°C, and 16 hours of reaction, with concentration of oxidant and catalyst of 4.62 mol.L⁻¹ and 3.0x10⁻³ mol.L⁻¹, respectively.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS	XVIII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Objetivos	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Óleos essenciais.....	4
2.1.1. Interior da laranja	5
2.1.2. Fruta fresca	6
2.1.3. Suco de laranja concentrado e congelado (FCOJ).....	6
2.1.4. Polpa	7
2.1.5. Óleo da casca	7
2.1.6. Essências (Aquosa e Oleosa)	7
2.1.7. D-limoneno	8
2.2. Valenceno.....	8
2.3. Nootkatona e nootkatol	9
2.4. Biotransformação do valenceno.....	12
2.5. Catalisadores biomiméticos	16
2.5.1. Biomiméticos	16
2.6. Considerações sobre o estado da arte	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1. Síntese dos Ligantes	21
3.1.1. Ligante bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiimina (BMTEI)	21
3.1.2. Ligante bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiamina (BMTEA)	21
3.1.3. Ligante bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina (BMPP)	22

3.2. Síntese dos complexos	23
3.2.1. Complexo tricloro[bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina]ferro(III) - [Fe ^{III} (BMPP)Cl(μ-O)Fe ^{III} Cl ₃]	23
3.2.2. Complexo dicloro[bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiamina]cobre(II) - [Cu ^{II} (BMTEA) ₂ Cl]Cl	23
3.2.3. Complexo dicloro[bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina]cobalto(II) - [Co ^{II} (BMPP)]Cl ₂	24
3.3. Reações de oxidação do valenceno	24
3.3.1. Planejamento experimental	27
3.4. Brancos das reações	28
3.5. Cinética da reação	29
3.6. Análises cromatográficas dos resultados das reações	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. Reações de oxidação da fase oleosa concentrada de laranja	31
4.2. Estudo cinético.....	44
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	50
5.1. Conclusões	50
5.2. Sugestões para trabalhos futuros	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
APÊNDICE A – COMPOSTOS PRESENTES NA FASE OLEOSA CONCENTRADA DE LARANJA	54
APÊNDICE B – PLANEJAMENTO E CROMATOGRAMAS PARA OS BRANCOS DA REAÇÃO	56
APÊNDICE C – PLANEJAMENTO PARA CINÉTICA DA REAÇÃO	59
APÊNDICE D – TABELAS DA CINÉTICA DA REAÇÃO	61
APÊNDICE E – CROMATOGRAMAS DA CINÉTICA DA REAÇÃO	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema dos principais produtos da laranja. Fonte:Tetra Pak, 1998.	6
Figura 2 - Fórmula estrutural plana do sesquiterpeno valenceno. Fonte: www.rdchemicals.com/=nootkatone.....	9
Figura 3 - Estrutura plana da nootkatona. Fonte:www.rdchemicals.com/=nootkatone.	10
Figura 4 - Estrutura plana do nootkatol. Fonte: www.rdchemicals.com/=nootkatone.	11
Figura 5 - Principais produtos da oxidação do valenceno pelos mutantes P450 _{cam} .	11
Figura 6 – Principais produtos de oxidação do valenceno pelos mutantes P450 _{BM-3} . (Sowden <i>et al.</i> , 2005).	12
Figura 7 - Cromatograma de íons totais do metabolismo de valenceno (1) por <i>Chlorella fusca</i> var. <i>vacuolata</i> (Furusawa <i>et al.</i> , 2005).....	13
Figura 8 - Cinética de biotransformação de (+)-valenceno (1) por <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i> IAM C-101. Compostos: nootkatona (2); 2a –hidroxivalenceno (3); nootkatol (4) (Furusawa <i>et al.</i> , 2005).....	14
Figura 9 - Cinética de transformação de (+)-valenceno e produtos submersos em culturas de <i>Chaetomium globosum</i> em 2.25 mM (+)-valenceno a 24°C e 150 rpm (Kaspera <i>et al.</i> , 2005).	15
Figura 10 - Biotransformação do valenceno (1) por <i>G. pentaphyllum</i>	16
Figura 11 - Estrutura do complexo binuclear de ferro III [Fe ^{III} (BMPP)Cl(μ-O) Fe ^{III} Cl ₃].	18
Figura 12 - Estrutura do complexo mononuclear de cobre II [Cu ^{II} (BMTEA) ₂ Cl]Cl.	19
Figura 13 - Estrutura do complexo mononuclear de cobalto [Co ^{II} (BMPP)]Cl ₂	19
Figura 14 - Rota de síntese para obtenção do BMTEI.	21
Figura 15 - Rota de síntese para obtenção do BMTEA.	22
Figura 16 - Rota de síntese para obtenção do BMPP.	22

Figura 17 - Unidade experimental de bancada utilizada para as reações de oxidação.	25
Figura 18 - Reator com a troca de atmosfera (argônio).....	26
Figura 19 – Reator (após adição do oxidante e substrato).....	26
Figura 20 – Reator depois da adição dos reagentes.....	27
Figura 21 - Cromatograma da fase oleosa concentrada de laranja utilizada nas reações de oxidação.	31
Figura 22 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C	36
Figura 23 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 6: catalisador de cobre = $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C	36
Figura 24 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8: catalisador de cobalto= $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C	37
Figura 25 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisador biomimético de ferro ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C	45
Figura 26 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando o catalisador biomimético de ferro ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C .].....	46
Figura 27 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisador biomimético de cobalto ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C	47
Figura 28 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja concentrada utilizando catalisador biomimético de cobalto ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C	48

- Figura B.1 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 1; temperatura = 30°C.56
- Figura B.2 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 2; temperatura = 70°C.57
- Figura B.3 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 3; oxidante (peróxido de hidrogênio) = 2,31 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.57
- Figura B.4 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 4: catalisador de ferro = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.57
- Figura B.5 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 5: catalisador de cobre= 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.58
- Figura B.6 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 6: catalisador de cobalto = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.58
- Figura E.1 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.1: catalisador de cobalto = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 4 horas.63
- Figura E.2 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.2: catalisador de cobalto = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 8 horas.63
- Figura E.3 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.3: catalisador de cobalto = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 12 horas.64
- Figura E.4 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.4: catalisador

de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C;
tempo= 16 horas.64

Figura E.5 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.5: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 20 horas.64

Figura E.6 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.6: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 24 horas.65

Figura E.7 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.7: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 4 horas.65

Figura E.8 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.8: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 8 horas.65

Figura E.9 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.9: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 12 horas.66

Figura E.10 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.10: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 16 horas.66

Figura E.11 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 20 horas.66

- Figura E.12 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 20 horas.67
- Figura E.13 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.1: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 4 horas.67
- Figura E.14 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.2: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 8 horas.68
- Figura E.15 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.3: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 12 horas.68
- Figura E.16 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.4: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 16 horas.68
- Figura E.17 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.5: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 20 horas.69
- Figura E.18 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.6: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 24 horas.69
- Figura E.19 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.7: catalisador

de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 4 horas.69

Figura E.20 -Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.8: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 8 horas.70

Figura E.21 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.9: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 12 horas.70

Figura E.22 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.10: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 16 horas.70

Figura E.23 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 20 horas.71

Figura E.24 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.12: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 24 horas.71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições experimentais para oxidação de valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando os complexos biomiméticos de ferro (Fe), cobre (Cu) e cobalto (Co) como catalisadores, onde o tempo de reação foi de 8 horas.	28
Tabela 2 - Resultado dos brancos da reação de oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, no período de 8 horas.....	32
Tabela 3 - Resultados da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, durante 8 horas de reação.....	34
Tabela 4 - Resultados das reações de oxidação do limoneno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, durante 8 horas de reação.....	39
Tabela 5 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de ferro como catalisador, no período de 8 horas.....	41
Tabela 6 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de cobre como catalisador, no período de 8 horas.....	42
Tabela 7 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de cobalto como catalisador, no período de 8 horas.....	43
Tabela A.1 - Caracterização química da fase oleosa concentrada de laranja.....	54
Tabela B.1 - Matriz experimental dos brancos das reações.....	56
Tabela C.1 - Matriz experimental para a cinética da reação com $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador ferro (Fe).	59

Tabela C.2 - Matriz experimental para a cinética da reação com $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador ferro (Fe).	59
Tabela C.3 - Matriz experimental para a cinética da reação com $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador cobalto (Co).	60
Tabela C.4 - Matriz experimental para a cinética da reação com $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador cobalto (Co).	60
Tabela D.1 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrda de laranja, catalisada por $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O}) \text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$.	61
Tabela D.2 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja, catalisada por $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O}) \text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$.	61
Tabela D.3 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrda de laranja, catalisada por $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$.	62
Tabela D.4 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja, catalisada por $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$.	62

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se verificado uma procura crescente por aditivos naturais para aplicação nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Entre estes, encontram-se os óleos essenciais e as oleoresinas, utilizados como ingredientes de aromatizantes e de antioxidantes, com o objetivo de substituir ou reduzir a quantidade de compostos de síntese utilizados. Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos, hidrocarbonetos terpênicos, derivados oxigenados dos hidrocarbonetos, compostos aromáticos e compostos com enxofre. A composição dos óleos essenciais difere em função da origem ou espécie de planta da qual foi extraído, podendo mesmo diferir dentro de uma mesma espécie, dependendo das condições climáticas em que se desenvolvem (Ribeiro *et al.*, 2008).

O óleo essencial de frutas cítricas é um produto que possui compostos com fragrância natural e tem sido amplamente utilizado em alimentos, cosméticos e produtos de higiene. Os óleos essenciais presentes em frutas como laranja, limão, pomelo, bergamota, mandarina, lima e nerori (óleo da flor de laranja) estão entre os principais não somente como aditivos em alimentos, mas também no campo da aromaterapia (Sawamura *et al.*, 2005).

Devido às suas fragrâncias delicadas, persistentes e agradáveis, os óleos essenciais possuem grande aplicação nas indústrias de perfume e alimentos. Sendo estes óleos obtidos de produtos naturais, eles se constituem em misturas bastante complexas. Em aromas, é muito importante reconhecer que, mesmo quando um componente está presente em grande concentração, não é ele necessariamente o responsável pelo aroma do produto. Este componente pode ser inodoro ou mesmo um realçador de odor. Este fato ocorre com óleos cítricos, onde terpenos oxigenados que são os constituintes em menores quantidades, contribuem com maior intensidade no aroma dos óleos (Grings, 2004).

A aplicação de complexos biomiméticos em reações de oxidação vem crescendo alicerçado pelo fato dos mesmos serem considerados compostos químicos que imitam o modelo do centro ativo das metaloenzimas.

O estudo do mecanismo de oxi-redução dos centros ativos das metaloenzimas tem despertado grande interesse nos últimos anos. Trabalhos

publicados na literatura relatam que é possível preparar complexos artificiais que tenham atividade catalítica similar às das metaloenzimas. Como exemplo, pode-se citar o caso das ferro porfirinas que têm a capacidade de catalisar a hidroxilação de alcanos, inspiradas no modelo de enzimas citocromo P450. Outros exemplos são os complexos de ferro capazes de catalisar a quebra oxidativa de catecóis por dioxigênio, baseado em enzimas catecol dioxigenases e complexos Cu-fenolato que catalisam a oxidação de álcoois a aldeídos, mimetizando a enzima galactose oxidase (Esmelindro, 2005).

1.1. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo principal investigar a oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja, utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto. Especificamente, os seguintes objetivos foram estabelecidos:

- Avaliar a influência das variáveis temperatura, concentração de catalisador e concentração de oxidante na oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja;
- Produzir outros compostos de interesse;
- Testar eficiência dos catalisadores biomiméticos, na oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja em nootkatona e nootkatol:
 - Ferro $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$;
 - Cobre $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$;
 - Cobalto $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$;
- Estudar o comportamento cinético da reação de oxidação do valenceno.

No Capítulo 2 é apresentada uma revisão da literatura sobre óleos essenciais de laranja, complexos biomiméticos de ferro, cobre, cobalto. No Capítulo 3 são descritos os materiais e métodos empregados nos experimentos de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. No Capítulo 4 são

apresentados os resultados e discussão. Finalmente, no Capítulo 5 são apresentadas as conclusões, resumindo os principais resultados, bem como algumas sugestões para trabalhos futuros.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Óleos essenciais

As frutas cítricas são muito conhecidas e apreciadas há milênios devido ao seu aroma e sabor agradável. Seu óleo essencial é obtido principalmente do sumo das cascas de seu fruto, mas pode ser também conseguido das flores (néroli), ou folhas (petitgrain). Dentre as mais conhecidas cabe citar as laranjas, os limões, limas, tangerinas, mandarinas e o pomelo. Seus óleos essenciais possuem um vasto número de aplicações terapêuticas e industriais, e são muito importantes na economia mundial de derivados de cítricos. Os óleos cítricos possuem em sua maioria um efeito repelente e inseticida a muitos tipos de insetos (Laszló, 2008).

Um dos grandes segredos das propriedades terapêuticas dos óleos cítricos está no alto teor de monoterpenos que estes possuem. Monoterpenos são as menores moléculas que compõem os óleos essenciais, por este motivo penetram com extrema facilidade em todos os tecidos e células do corpo humano e possuem uma poderosa ação solvente de lipídeos (gorduras). O monoterpeno presente em maior teor nestes óleos é o d-limoneno. Seu teor na laranja chega a 90%, no limão de 65-70%, na tangerina 70% e no *grapefruit* 95%. Várias pesquisas científicas revelaram que esta substância possui propriedades anticancerígenas, solvente de cálculos e de entupimentos nas artérias (Laszló, 2008).

O óleo essencial de limão possui dentre os cítricos uma mistura mais complexa de monoterpenos em sua composição que faz com que em alguns tipos de tratamento ele tenha uma ação ainda melhor que os óleos essenciais de laranja ou *grapefruit* (Laszló, 2008).

Também denominado "*Orange peel oil*", o óleo essencial é obtido durante o processo de extração do suco. Um jato d'água capta o óleo da casca, formando uma mistura de água mais óleo denominada emulsão. Por meio da centrifugação o óleo é separado, obtendo-se assim o óleo essencial final, que pode ser transportado a granel ou envasado em tambores, sendo distribuído aos clientes no mundo todo (www.citrosuco.com.br).

2.1.1. Interior da laranja

Essencialmente, a laranja é uma “bola” de suco com cavidades, protegida por uma película cerosa, a casca. A casca consiste de uma fina camada externa chamada flavedo e uma grossa camada interior fibrosa chamada de albedo. Substâncias coloridas da laranja chamadas carotenóides no flavedo atribuem ao fruto estas características coloridas. Vesículas (pequenas cavidades) contendo óleo da casca também presente no flavedo contribuem para o aroma fresco das frutas. O albedo é esponjoso, branco e contém várias substâncias que influenciam na qualidade do suco, muitas vezes negativamente, se eles encontram seus caminhos dentro do suco extraído. Esta substâncias incluem flavonóides, d-limoneno, limonim e pectina (Tetra Pak, 1998).

A porção comestível da fruta é conhecida como o endocarpo. Este consiste na retirada da parte central fibrosa, segmentos individuais, segmentos das paredes e nas membranas externas. Os segmentos contêm suco de vesículas, ou suco das cavidades, que são sustentadas simultaneamente por uma substância cerosa. Sementes também estão presentes dentro dos segmentos (Tetra Pak, 1998).

O suco contém açúcares, ácidos, vitaminas minerais, pectinas e componente de uma determinada cor junto com muitos outros. Depois que o suco é extraído, pedaços das cavidades do suco rompem e segmentos da parede são recuperados como polpa. Quando estas partículas são grandes, elas são referidas como polpa flutuante porque elas sobem para a superfície do suco. Muitas partículas finas e sólidos suspensos que se acumulam gradualmente no fundo do suco são chamadas polpa submersa (Tetra Pak, 1998).

A Figura 1 apresenta um esquema dos principais produtos obtidos da extração da laranja.

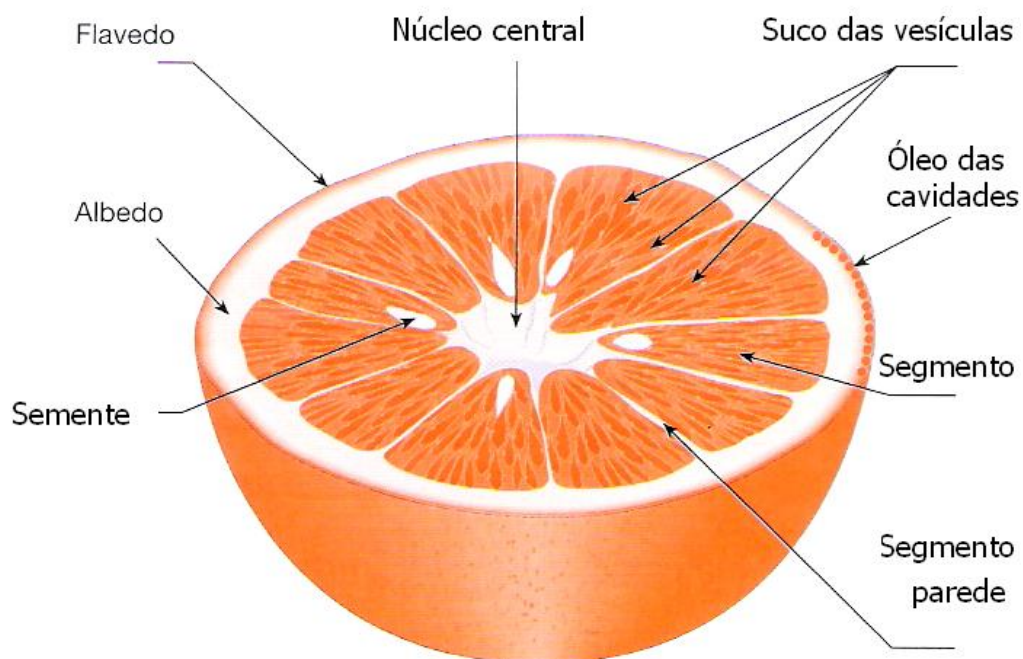


Figura 1 – Esquema dos principais produtos da laranja. Fonte: Tetra Pak, 1998.

2.1.2. Fruta fresca

Após seleção, frutas são destinadas ao mercado de frutas frescas e enviadas para estações de embalagem, onde estas são normalmente classificadas pelas inspeções visuais, lavadas, revestidas com cera e embaladas. O detergente usado na lavagem pode incluir fungicida. Os traços de fungicida podem ser encontrados dentro do suco, frutos embalados em casa não podem ser transformados em suco para venda, por exemplo, nos países da União Européia (Tetra Pak, 1998)

2.1.3. Suco de laranja concentrado e congelado (FCOJ)

O principal produto extraído da laranja é o suco de laranja concentrado e congelado (FCOJ). Por meio do processo de extração e concentração, o FCOJ é produzido sem qualquer perda de suas qualidades e sem qualquer uso de aditivos, sendo, após este processo, congelado a baixas temperaturas para preservar suas

propriedades naturais, principalmente quanto à vitamina C. Quando reconstituído, o suco conserva seu sabor e qualidade original (www.montecitrus.com.br).

2.1.4. Polpa

A ruptura das cavidades do suco e segmentos das paredes são recuperados, após o processo de extração. Este pode ser adicionado de volta ao para dar uma aparência natural ao produto. Polpa, também comercializada como “células”, é usualmente distribuída congelada, mas em recipientes assépticos (Tetra Pak, 1998).

A lavagem da polpa contém sólidos solúveis dos frutos (açúcares) e é frequentemente usado na formulação de bebidas de frutas como uma fonte de açúcares das frutas. É também utilizado com um agente da turbidez para fornecer consistência devido ao seu conteúdo de pectina (Tetra Pak, 1998).

2.1.5. Óleo da casca

Alguns óleos da casca são adicionados para concentrar após prévia evaporação e armazenamento em longo prazo. Ela máscara ou atrasa o desenvolvimento do sabor durante o armazenamento. É vendido para fábricas de condimentos para a produção de diversos compostos utilizados no sabor das bebidas, cosméticos e indústrias químicas (Tetra Pak, 1998).

2.1.6. Essências (Aquosa e Oleosa)

Essências compreendem os componentes voláteis recuperados pelo processo de evaporação. E por um processo de separação por decantação obtêm-se dois produtos: essência de laranja na fase aquosa e essência de laranja na fase oleosa. Os compostos solúveis em água (essência aroma) às vezes são adicionados de volta para o concentrado ou produto do suco. A fase oleosa (óleo essencial) é diferente do óleo da casca e contém mais o sabor das frutas. Óleo essencial é também usado como adição ao concentrado. Ambos os aromas e óleos essenciais são matérias-primas usadas pelas companhias de sabores para a fabricação de

misturas de sabores para as bebidas e outras indústrias alimentícias (Tetra Pak, 1998).

2.1.7. D-limoneno

É obtido do processo de concentração do licor extraído do bagaço da laranja. Este licor, resultado da prensagem do bagaço, é concentrado num evaporador, havendo, assim, a remoção da água e do limoneno. Este limoneno é separado da água por decantação e então armazenado para posterior comercialização (www.citrosuco.com.br).

É o principal componente da casca do óleo. D-limoneno industrial é recuperado como um subproduto a partir de resíduos de cascas na alimentação de engenhos. É vendido para uso na indústria de plásticos como matéria-prima para a fabricação de resinas sintéticas e adesivas. Foi também encontrada uma utilização como solvente, por exemplo, na indústria eletrônica (Tetra Pak, 1998).

2.2. Valenceno

O valenceno é um sesquiterpeno ($C_{15}H_{24}$), possui massa molar de 204 g.mol^{-1} , e é encontrado em pequena concentração em plantas cítricas, sendo produzido biossinteticamente a partir do difosfato de farnesila pela rota bioquímica do mevalonato (Zampieri, 2006). A Figura 2 apresenta a estrutura do sesquiterpeno valenceno.

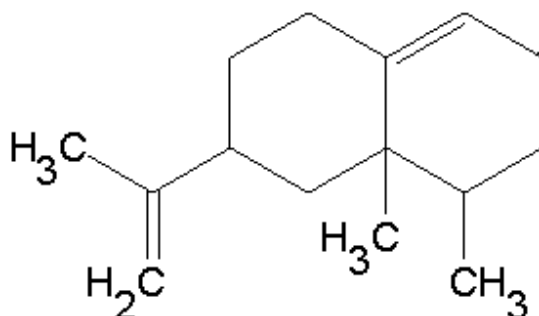


Figura 2 - Fórmula estrutural plana do sesquiterpeno valenceno. Fonte: www.rdchemicals.com/=nootkatone.

O valenceno é utilizado como ingrediente de aromas e fragrâncias. A maioria das aplicações é focada em aromas para a indústria de bebidas (especialmente os aromas de *grapefruit*) e da indústria de fragrâncias. É aplicado em bebidas, fragrâncias para perfumes e sabonetes (www.isobionics.com/pagina11.html).

2.3. Nootkatona e nootkatol

Flavorizantes são extremamente importantes para as indústrias de alimentos, rações, cosméticos, químicas e farmacêuticas. A maior parte dos flavorizantes disponíveis é atualmente produzida por síntese química ou por extração de plantas, sendo que os processos químicos podem ter a indesejável característica de formar misturas racêmicas, além de contarem com a aversão dos consumidores frente aos “químicos” adicionados aos alimentos, cosméticos ou outros produtos. Isto tem causado um aumento da atenção a compostos flavorizantes de origem biológica, também chamados flavorizantes naturais ou bioflavorizantes (Zampieri, 2006).

Até o momento, as plantas têm sido uma importante fonte de óleos essenciais e flavorizantes, entretanto, compostos ativos são freqüentemente encontrados em pequenas quantidades ou em forma ligada ou ainda podem ser encontrados em plantas exóticas, tornando o isolamento difícil e muito caro (Zampieri, 2006).

Apesar da existência de técnicas que utilizam células de plantas na síntese destes compostos, estas ainda necessitam de um maior desenvolvimento, já sendo uma alternativa viável a síntese de flavorizantes baseada em processos microbiológicos (bactérias, fungos e leveduras) (Zampieri, 2006).

A nootkatona ou (4*R*, 4*aS*,6*R*)-4,4*a*,5,6,7,8-hexahidro-4,4*a*-dimetil-6-(1-metiletenil)naftalen-2(3*H*)-ona, de fórmula molecular $C_{15}H_{22}O$ (Figura 3) possui massa molar de $218.33 \text{ g.mol}^{-1}$, é uma cetona sesquiterpênica, da classe do valenceno, que foi isolada pela primeira vez do cedro no Alasca em 1926 e faz parte, em pequenas quantidades, de diversos óleos de cítricos. Apresenta potente efeito cupincida (onde parece estar envolvida na atividade receptora específica) e também potente efeito repelente de vários insetos, não sendo tóxica para humanos. A nootkatona é produzida comercialmente principalmente através da extração do fruto *grapefruit*. Porém, essa forma de obtenção é problemática, pois as concentrações encontradas no fruto são muito baixas (0,05 a 0,2 %) e a oferta do fruto é limitada e irregular, tornando o processo caro. A utilização do suco de *grapefruit* íntegro em processos alimentícios também é problemática, pois o mesmo apresenta várias e importantes interações medicamentosas (Zampieri, 2006). O produto da bioxidação do valenceno é a nootkatona, flavorizante natural cuja estrutura química é apresentada na Figura 3.

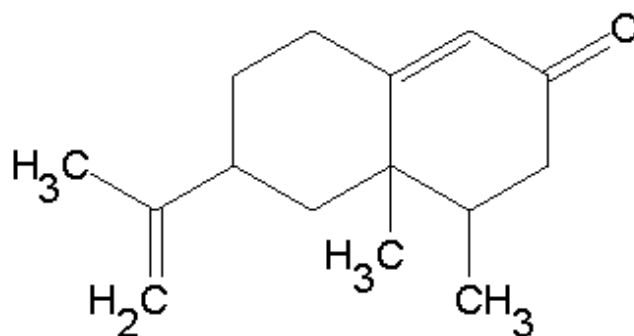


Figura 3 - Estrutura plana da nootkatona. Fonte: www.rdchemicals.com/=nootkatone.

A nootkatona foi previamente estudada para ser um dos principais componentes químicos do aroma e sabor de *grapefruit*. Na sua forma sólida, é

normalmente encontrada como cristais. Como um líquido, é viscoso e amarelo. A nootkatona é normalmente extraída de *grapefruit* ou obtida através da oxidação química ou bioquímica do valenceno. A maioria das suas aplicações são encontradas em aromas para as indústrias de bebidas (refrigerantes) (www.isobionics.com/pagina11.html).

Já o nootkatol (6-isopropenil-4,4a-dimetil-3, 4, 5, 6, 7, 8-hexahidro-2H-naftaleno-2-ol), $C_{15}H_{24}O$ é um álcool de massa molar $220.35 \text{ g.mol}^{-1}$. A Figura 4 apresenta a estrutura do nootkatol.

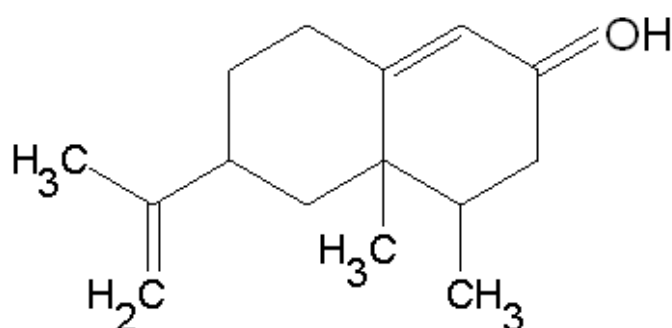


Figura 4 - Estrutura plana do nootkatol. Fonte: www.rdchemicals.com/=nootkatone.

Sendo um intermediário da reação de oxidação do valenceno a nootkatona, poucos trabalhos na literatura relatam a obtenção e caracterização do nootkatol.

Sowden *et al.* (2005), apresentaram um estudo de biotransformação do valenceno puro (10mM) em nootkatol e nootkatona, utilizando enzimas de citocromo P450_{cam} (*Pseudomonas putida*) e P450_{BM-3} (*Bacillus megaterium*). A Figura 5 mostra os principais produtos da oxidação do valenceno pelos mutantes do citocromo P450_{cam}.

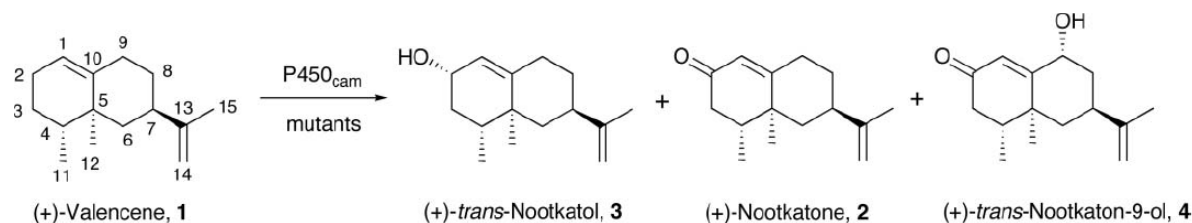


Figura 5 - Principais produtos da oxidação do valenceno pelos mutantes P450_{cam}.

O nootkatol (3) é formado antes da nootkatona, e apresenta um rendimento que varia de 38 a 86% utilizando mutantes de P450_{cam}. Produção de nootkatona (2) apresentou um rendimento de 4,2 a 20 %, em 48 horas (Sowden *et al.*, 2005).

A Figura 6 mostra os produtos da oxidação do valenceno pelos mutantes do citocromo P450_{BM-3}.

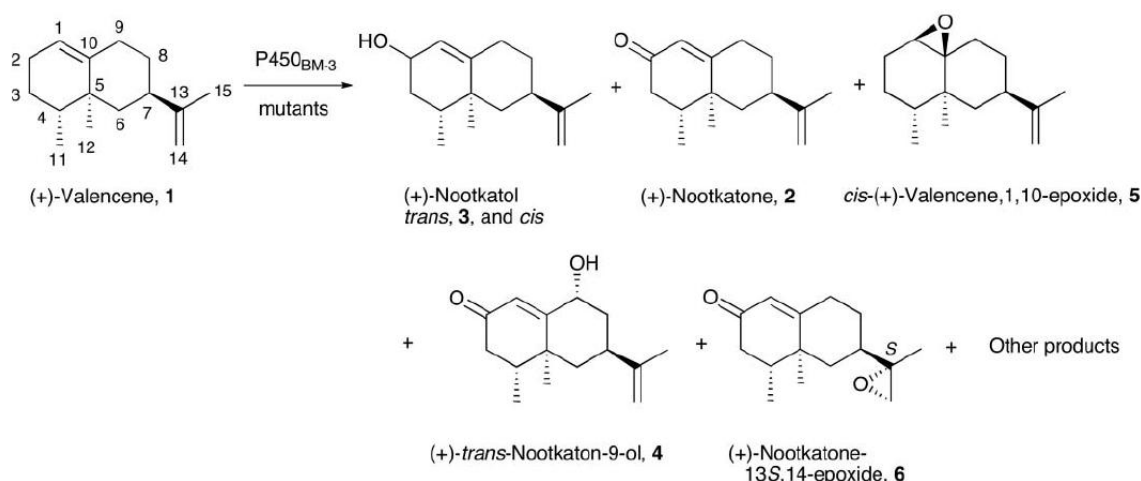


Figura 6 – Principais produtos de oxidação do valenceno pelos mutantes P450_{BM-3}. (Sowden *et al.*, 2005).

Utilizando os mutantes do P450_{BM-3} o rendimento de *trans*-nootkatol (3) foi de 0,0 a 20,5 % e a produção de nootkatona (2) de 0,0 a 22%, em 48 horas (Sowden *et al.*, 2005).

2.4. Biotransformação do valenceno

Furusawa *et al.* (2005) apresentaram um estudo experimental da biotransformação de valenceno utilizando os microorganismos *Chlorella fusca* var. *vacuolata*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, Espécies de *Mucor*, *Botryosphaeria dothidea*, *Botryodiplodia theobromae*.

Na utilização de algas verdes (*Chlorella fusca* var. *vacuolata*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*) a inoculação e cultivo foi efetuada a 25°C, pH 8,0 por 7 dias. Após este período foi feita a adição de 20mg/50ml de valenceno, permanecendo no meio por 18 dias até produzir nootkatona. Neste caso, houve um rendimento em área de 89% (Furusawa *et al.*, 2005). A Figura 7 apresenta o cromatograma da biotransformação do valenceno puro para nootkatona, utilizando *Chlorella fusca* var. *vacuolata*.

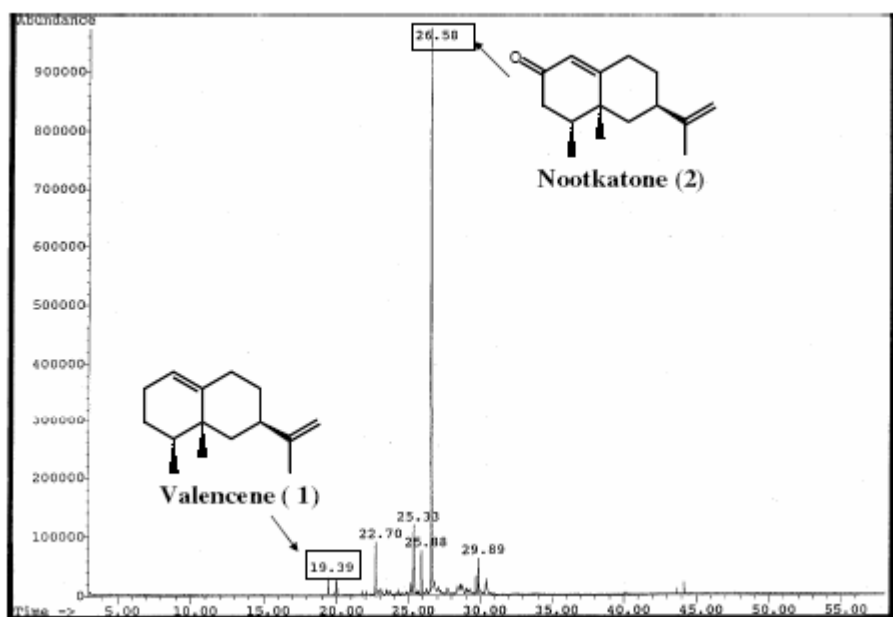


Figura 7 - Cromatograma de íons totais do metabolismo de valenceno (1) por *Chlorella fusca* var. *vacuolata* (Furusawa *et al.*, 2005).

A Figura 8 mostra a transformação do valenceno por *Chlorella pyrenoidosa* num tempo de 20 dias. Onde o rendimento de nootkatona (2) e nootkatol (4), sem 2a-hidroxivalenceno (3) aumentou com a diminuição do valenceno (1).

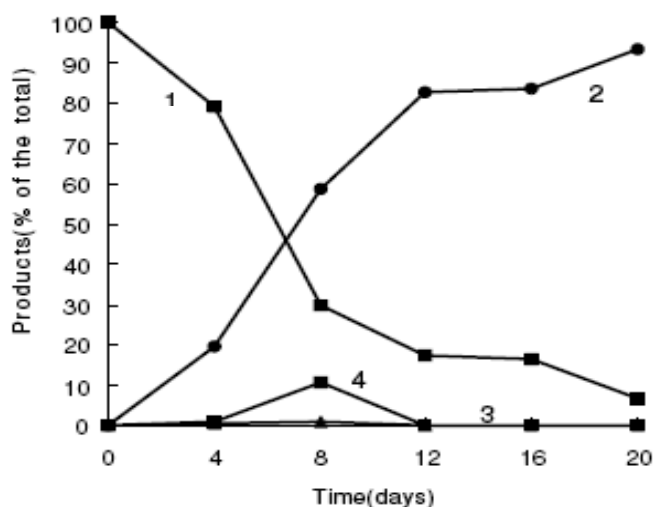


Figura 8 - Cinética de biotransformação de (+)-valenceno (1) por *Chlorella pyrenoidosa* IAM C-101. Compostos: nootkatona (2); 2a – hidroxivalenceno (3); nootkatol (4) (Furusawa *et al.*, 2005).

Quando foram utilizadas espécies de fungos (*Mucor*), a inoculação e cultivo ocorreram na temperatura de 30°C, pH 7,0 por 7 dias; após este período foi feita a adição de 20mg de valenceno/50mL, permanecendo incubados por um período de 7 dias até produzir nootkatona, obtendo-se um rendimento de 82% (Furusawa *et al.*, 2005).

A utilização de fungos patogênicos (*Botryosphaeria dothidea*, *Botryodiplodia theobromae*) foi efetuada com inoculação e cultivo a 30°C, pH 7,0 por 7 dias. Após este período foi feita a adição de 20mg de valenceno/50mL, permanecendo incubados por um período de 7 dias até produzir nootkatona. Foram utilizadas três espécies de *Botryosphaeria dothidea*, variando-se o rendimento entre 92 e 100%. Para *Botryodiplodia theobromae* foram utilizadas duas espécies e o rendimento foi de 44 e 72% (Furusawa *et al.*, 2005).

Kaspera *et al.* (2005) apresentaram um estudo da bioconversão de valenceno pelo fungo *Chaetomium globosum* inoculado a 24° C e 150 rpm. As bioconversões foram iniciadas 3 dias após a inoculação pela adição de 2,25mM de valenceno. A transformação dos produtos se deu num período de 4 dias, tendo como resultado a formação de 11 compostos (α -Nootkatol (2a), β -nootkatol (2a), nootkatona (3),

Nootkatona-11,12-epoxido (4), Valenceno-11,12-epoxido (5), Hidroxioxo-valenceno (6), Valencenodiol (7a), Valencenodiol (7b), Valenceno ceto-diol (8), Valencenotriol/valenceno-epoxidiol (9).

A Figura 9 ilustra a reação transformação de valenceno em nootkatona e outros produtos de interesse em 9 dias. Durante a cinética de transformação do valenceno por *Chaetomium globosum*, a quantidade de valenceno cai bruscamente. Após 24 horas verifica-se um aumento de nootkatona e nootkatona-11,12-epoxido, onde a nootkatona apresenta um rendimento de 19,5% (Kaspera *et al.*, 2005).

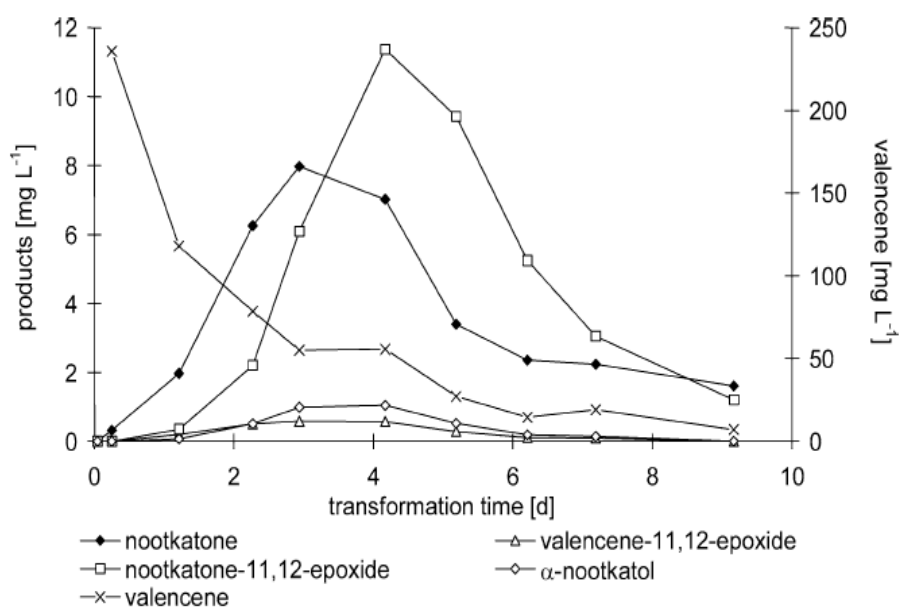


Figura 9 - Cinética de transformação de (+)-valenceno e produtos submersos em culturas de *Chaetomium globosum* em 2.25 mM (+)-valenceno a 24°C e 150 rpm (Kaspera *et al.*, 2005).

Sakamaki *et al.* (2005) apresentaram um estudo sobre a biotransformação via *Gynostemma pentaphyllum*, inoculado a 25°C por 3 dias sob agitação de 120 rpm, com a adição de 180 mg valenceno, tendo a mistura permanecido por 20 dias. Na Figura 10 observa-se a transformação de valenceno (1) em nootkatona (2), nootkatol (3) e epinootkatol (4). Através da Figura 10 verifica-se que o rendimento de

nootkatona (**2**) foi de 72 %, nootkatol (**3**) 11% e epinootkatol (**4**) foi de 5% (Sakamaki *et al.*,2005).

A Figura 10 apresenta o rendimento de nootkatona durante 20 dias de reação.

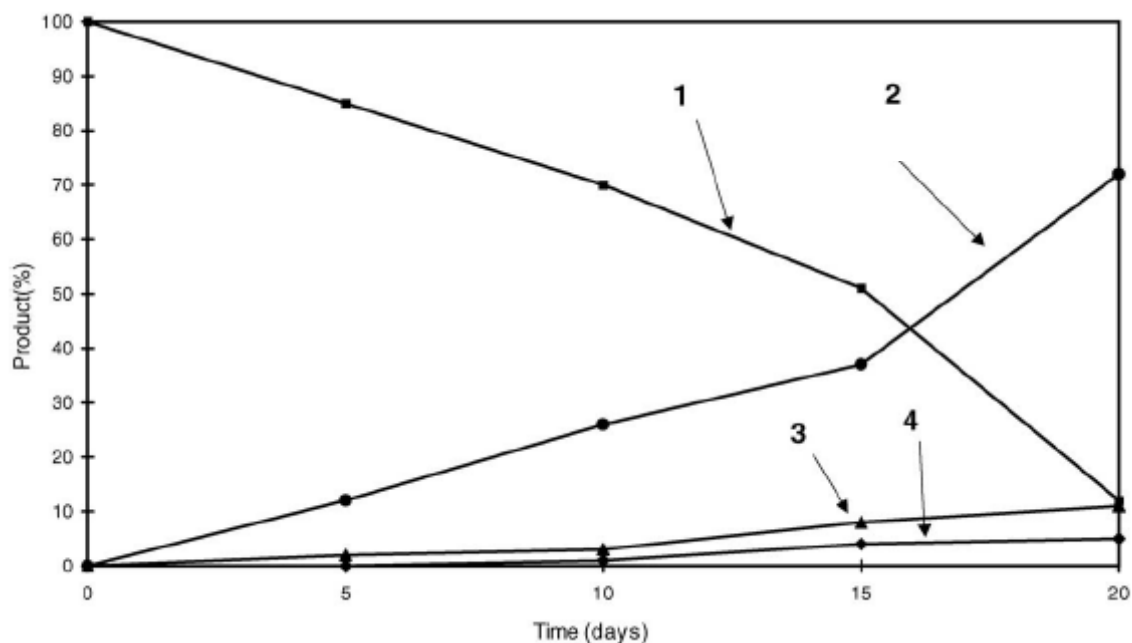


Figura 10 - Biotransformação do valenceno (1) por *G. pentaphyllum*.

2.5. Catalisadores biomiméticos

2.5.1. Biomiméticos

Os elementos metálicos desempenham uma variedade de funções na bioquímica. Uma grande parte da química de transferência de elétrons acontece em sistemas biológicos, e praticamente todos eles dependem de forma crítica de um agente metálico de transferência de elétrons. Isso inclui citocromo ferro, ferredoxinas (Ferro) e um grande número de “proteínas azuis” contendo cobre, como azurina, a plastocianina e a estelocianina (Costa, 2006).

Metaloenzimas e metalocoenzimas estão envolvidas em grande parte da atividade enzimática, que depende da presença de íons metálicos no sítio ativo da

enzima ou na “chave” da coenzima. Da última pode-se citar a vitamina B₁₂, que contém cobalto. Já importantes metaloenzimas incluem a carboxipeptidase (Zn), álcool desidrogenase (Zinco), superóxido-dismutase (Cobre, Zinco) e o citocromo P450 de Ferro (Costa, 2006).

Devido a grande importância da presença de íons metálicos nos sistemas vivos, os princípios da Química Inorgânica se tornaram extremamente relevantes para o entendimento dos sistemas biológicos. Como resultado, houve uma troca de idéias entre químicos inorgânicos e os bioquímicos, que conduziu ao crescimento e ao reconhecimento de uma outra área interdisciplinar da química chamada Química Bioinorgânica (Costa, 2006).

De fato, o conhecimento de reações e de estruturas inorgânicas auxiliou no entendimento de processos biológicos. As estruturas presentes na natureza estimularam a síntese e a caracterização de novos compostos inorgânicos, chamados compostos biomiméticos. Esses compostos estão sendo constantemente estudados e projetados para melhorar o conhecimento sobre as funções dos metais e dos ligantes na natureza. Atualmente, os catalisadores possuem uma importância econômica indiscutível. Eles contribuem para o aprimoramento de várias reações feitas em escala industrial e para a melhoria da qualidade de vida da sociedade como um todo. A nova tendência das pesquisas está relacionada à descoberta de novos materiais e inovações nos processos químicos catalíticos, procurando desvendar novos mecanismos mais seletivos e com maior rendimento (Costa, 2006).

Atualmente, os complexos metálicos têm sido amplamente utilizados como catalisadores para oxidação seletiva de substratos orgânicos. Dentre estas enzimas, as monooxigenases são as mais largamente estudadas, sendo as que contêm ferro e cobre as mais exploradas, uma vez que estes metais são os mais frequentemente encontrados em seus centros ativos (Esmelindro, 2005).

As monooxigenases de ferro são extensivamente investigadas, pois catalisam reações como a epoxidação de ligações C-C insaturadas e hidroxilação de anéis aromáticos ou ligações C-H em hidrocarbonetos saturados, as quais são dificilmente realizadas por sistemas catalíticos convencionais (Esmelindro, 2005). O ligante utilizado foi o bis (2-metilpiridil)-1,4-piperidina (BMPP). A Figura 11 apresenta a estrutura do complexo biomimético de ferro utilizado neste trabalho.

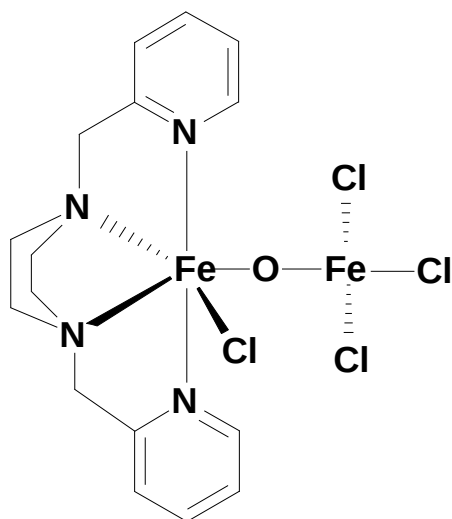


Figura 11 - Estrutura do complexo binuclear de ferro III $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$.

O cobre faz parte do sítio ativo de diversas enzimas que desempenham papel fundamental em sistemas vivos. Este metal coordena-se à proteína formando complexos mononucleares (dopamina-b-monooxigenase), binucleares (tirosinase, hemocianina), trinucleares (lacase) ou tetranucleares (óxido nitroso redutase). Muitas dessas enzimas estão envolvidas no metabolismo do oxigênio e, desta forma, o cobre pode ser encontrado no estado reduzido Cu(I) , oxidado Cu(II) ou valência mista. O grupo de enzimas monooxigenases não inclui somente enzimas contendo ferro como a citocromo P450 e as metano monooxigenases (MMO), mas também, enzimas contendo cobre, como a tirosinase e a dopamina-b-monooxigenase, entre outras (Esmelindro, 2005). O ligante utilizado foi o bis (2-metiltienil)-1,2-etilenodiamina (BMTEA). A Figura 12 apresenta a estrutura do complexo biomimético de cobre utilizado neste trabalho.

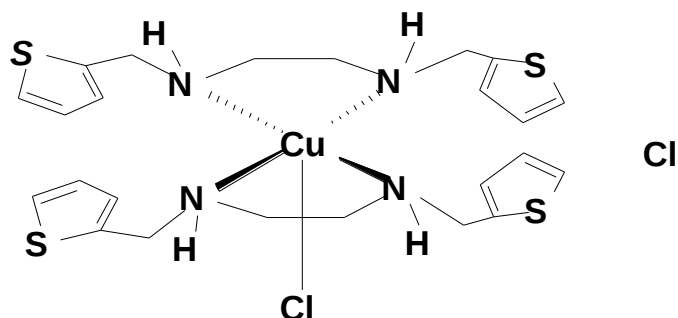


Figura 12 - Estrutura do complexo mononuclear de cobre II $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$.

Nos últimos anos, as sínteses de complexos de cobalto têm sido relatados na literatura e a atividade catalítica de compostos sintéticos tem sido investigada no sentido de obter produtos alílicos de oxidação. Desta forma, um novo complexo cobalto (II) foi sintetizado e caracterizado na busca de novos catalisadores para a oxidação de monoterpenos (Caovilla *et al.*, 2006). O ligante utilizado foi o bis (2-metilpiridil)-1,4-piperidina (BMPP). A Figura 13 apresenta a estrutura do complexo biomimético de cobalto utilizado neste trabalho.

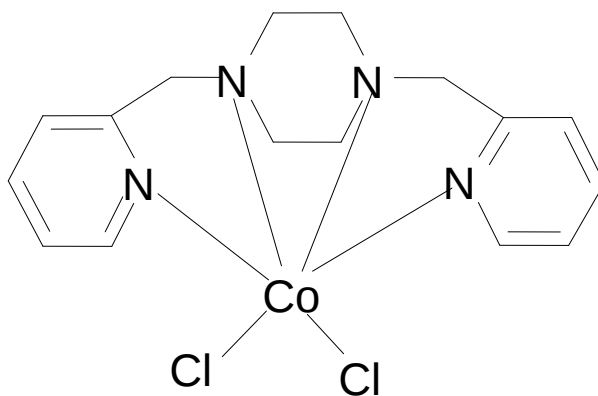


Figura 13 - Estrutura do complexo mononuclear de cobalto $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$.

2.6. Considerações sobre o estado da arte

O Brasil conhecidamente tem na agroindústria um dos seus principais pilares da economia e alicerce de sustentação e estabilidade.

Particularmente, a indústria de citros desempenha há longo tempo papel relevante no setor, destacando-se e servindo, em certo grau, de elemento marca registrada no cenário internacional. Neste contexto, a laranja tem sido, indubitavelmente item de peso, agregando força de trabalho considerável, embora rotulada como “commodity”, propicia entrada significativa de investimentos, e divisas ao país. Apesar de considerada por muitos anos como uma indústria madura, consolidada, verifica-se, no entanto que há muito ainda por se fazer.

A leitura do estado da arte pertinente ao objeto de estudo do presente trabalho demonstrou flagrante carência de informações a respeito da transformação do valenceno em nootkatona e nootkatol. De fato, os poucos relatos de processos ou técnicas existentes referem-se ao uso de microorganismos ou enzimas em tempos demasiadamente longos do ponto de vista industrial.

Assim, considerando a relevância da origem da matéria-prima, inserida no setor da laranja, dos produtos a serem obtidos, suas aplicações e o fato de que não foram encontrados relatos de utilização de biomiméticos na transformação do valenceno, justifica-se a realização do presente trabalho, conferindo-lhe grau de ineditismo no círculo acadêmico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Síntese dos Ligantes

A primeira etapa do presente trabalho foi dedicada à síntese de ligantes, ou seja, dos compostos orgânicos utilizados na síntese dos complexos de ferro (III), cobre (II), e cobalto (II). Os ligantes foram sintetizados conforme descrito na literatura, aqui relatado de forma sucinta (Esmelindro, 2005).

3.1.1. Ligante bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiimina (BMTEI)

Em um balão de 100 mL, contendo 50 mL de etanol, foi adicionado 1,7 mL (0,025 mol) de etilenodiamina. Em seguida, adicionou-se lentamente 4,7 mL (0,05 mol) de 2-carboxi-aldeído-tiofeno e 5 gotas de ácido acético glacial. A reação foi deixada sob agitação e refluxo na temperatura de 65°C por 12 horas, em seguida filtrada a vácuo. Os cristais obtidos foram armazenados em dessecador. A rota para a síntese do BMTEI é apresentada na Figura 14 (Esmelindro, 2005).

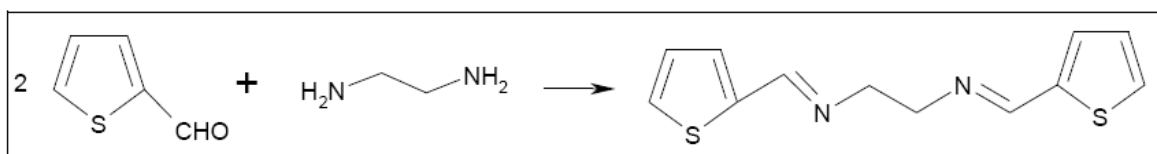


Figura 14 - Rota de síntese para obtenção do BMTEI.

3.1.2. Ligante bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiamina (BMTEA)

O ligante BMTEA foi sintetizado pela redução do ligante BMTEI utilizando o borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor. Em um balão de 100 mL contendo 50 mL de metanol, adicionou-se 3,0g (0,012 mol) do ligante BMTEI. Em seguida, a solução foi colocada em banho de gelo e adicionou-se lentamente 0,8g (0,02 mol) de borohidreto de sódio (NaBH_4). Após a adição do mesmo, a reação foi retirada do banho de gelo e deixada sob agitação e temperatura ambiente por 1 dia.

A solução foi concentrada em evaporador rotatório a 50°C, em seguida solubilizada em 20 mL de água destilada e extraída com clorofórmio (5 vezes de 10 mL). A fase orgânica obtida foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório a 50°C. A rota sintética do BMTEA é apresentada na Figura 15 (Esmelindro, 2005).

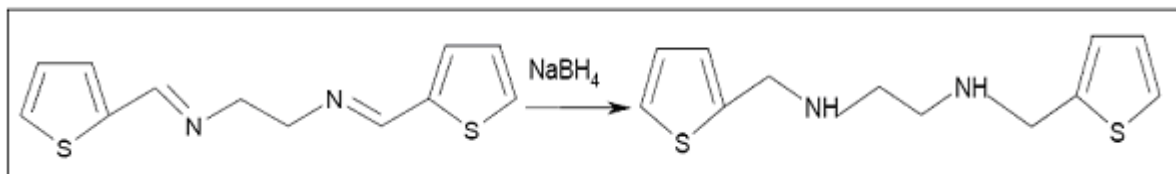


Figura 15 - Rota de síntese para obtenção do BMTEA.

3.1.3. Ligante bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina (BMPP)

Na síntese do ligante bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina (BMPP), reagiram-se 2-clorometilpiridina 4 g, piperazina 1g (0,012 mmol) e brometo de tetrabutilamônio (TBAB), como catalisador de transferência de fases para acelerar a reação 0,04 g (0,125 mmol) em 10mL de NaOH (3M), sob agitação e atmosfera de argônio em um balão de 100 mL. Após 8 horas de reação, o produto foi concentrado em evaporador rotativo, solubilizado em água destilada e submetido a sucessivas extrações com diclorometano (CH₂Cl₂). A rota para a síntese é apresentada na Figura 16 (Esmelindro, 2005).

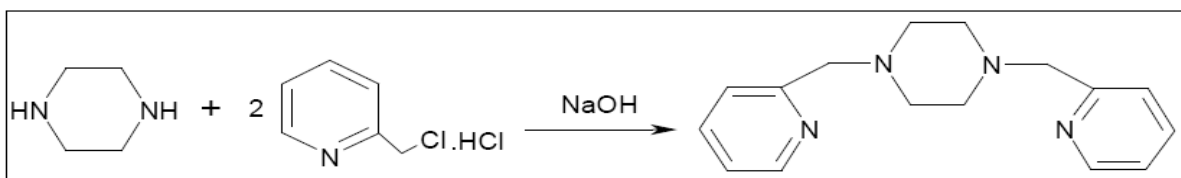


Figura 16 - Rota de síntese para obtenção do BMPP.

3.2. Síntese dos complexos

Os complexos foram sintetizados com os ligantes obtidos na etapa anterior e caracterizados através de análises de Espectroscopia de Infravermelho, Mossbauer (complexo de ferro) e Eletrônica, Condutivimetria, Análise elementar de CHN, Voltametria cíclica e Cristalografia de Raios X, conforme descrito por Esmelindro, 2005. No caso do complexo de cobalto a caracterização envolveu somente as análises de Espectroscopia de Infravermelho, Condutivimetria, Voltametria cíclica e cristalografia de Raios X de acordo com Caovilla *et al.*, 2006.

3.2.1. Complexo tricloro[bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina]ferro(III) - $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$

Solubilizou-se 0,0037 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 20 mL de acetonitrila em um balão de 100 mL. A esta solução em agitação, adicionou-se lentamente 2,02g (1mmol) de ligante BMPP, neste momento a solução turvou. Deixou-se reagindo em agitação por 1 dia e em seguida filtrou-se, observou-se a formação de cristais marrons (Esmelindro, 2005).

3.2.2. Complexo dicloro[bis(2-metiltienil)-1,2-etilenodiamina]cobre(II) - $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$

Em um béquer de 50 mL solubilizou-se 0,5g (2mmol) de ligante BMTEA em 10 mL de metanol. Em outro béquer solubilizou-se 0,17g (1mmol) de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Esta segunda solução foi vertida sobre a do ligante em agitação. Depois de alguns minutos observou-se a formação de sólidos com coloração azul celeste. A solução com o precipitado foi deixada em agitação por 2 horas. Após este período, a solução foi filtrada e o sólido obtido foi recristalizado em metanol/acetonitrila (1:1), obtendo-se após quatro dias cristais azuis-escuros (Esmelindro, 2005).

3.2.3. Complexo dicloro[bis(2-metilpiridil)-1,4-piperazina]cobalto(II) - $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$

Solubilizou-se 0,118g (0,5 mmol) de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 15 mL de acetonitrila em um béquer de 100 mL. A esta solução em agitação, adicionou-se lentamente 0,268g (1mmol) de ligante BMPP e neste momento a solução turvou. Deixou-se reagindo em agitação por 1 hora a temperatura ambiente em seguida filtrou-se. A solução obtida da filtração foi guardada em geladeira e após 24 horas observou-se a formação de monocristais roxos (Caovilla *et al.*, 2006).

3.3. Reações de oxidação do valenceno

Nos testes catalíticos foram empregados os complexos de ferro, cobre e cobalto para catalisar as reações de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. O solvente utilizado foi acetonitrila (CH_3CN) e como oxidante foi usado peróxido de hidrogênio (H_2O_2 -30% em água, Merck).

Durante as reações foi avaliada a influência das seguintes variáveis: temperatura (30, 50 e 70°C), concentração de catalisador ($7,0 \times 10^{-4}$, $1,1 \times 10^{-3}$ e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e concentração de oxidante (0,77; 1,54 e $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$) totalizando 9 experimentos mais duas triplicatas do ponto central, sendo realizado o mesmo planejamento para cada catalisador utilizado. A concentração de substrato (fase oleosa concentrada de laranja), utilizada nas reações de oxidação, foi mantida em $0,77 \text{ mol.L}^{-1}$. As faixas experimentais estudadas partiram de uma determinada condição experimental que apresentou melhor rendimento na oxidação do cicloexano, selecionada do trabalho reportado por Esmelindro, 2005.

A fase oleosa concentrada da laranja foi fornecida pela Aripe-BioCitrus, Montenegro-RS. A caracterização química da fase oleosa é apresentada na Tabela A.1 (Apêndice A). As reações foram realizadas em reatores de vidro encamisados com volume de 50 mL.

Ao reator adicionou-se o catalisador, o solvente (17 mL) e vedou-se o mesmo com septo de borracha, mantendo o conteúdo do mesmo sob agitação. Trocou-se a

atmosfera com argônio para retirar todo o oxigênio residual e adicionou-se o oxidante.

Finalmente, adicionou-se a fase oleosa concentrada de laranja ($0,77\text{mol.L}^{-1}$) e deixou-se reagindo sob agitação por 8 h. As reações foram interrompidas com a adição de 3 g de sulfito de sódio anidro (Na_2SO_3). O meio reacional foi então filtrado e estocado sob refrigeração. As Figuras 17 a 20 apresentam a unidade experimental utilizada na reação de oxidação do valenceno.



Figura 17 - Unidade experimental de bancada utilizada para as reações de oxidação.



Figura 18 - Reator com a troca de atmosfera (argônio).



Figura 19 – Reator (após adição do oxidante e substrato).



Figura 20 – Reator depois da adição dos reagentes.

3.3.1. Planejamento experimental

Para verificar o efeito das variáveis (temperatura de reação, concentração de catalisador e concentração e oxidante) foi elaborado um planejamento experimental em dois níveis 2^3 com triplicata do ponto central, totalizando 33 experimentos, 11 para cada catalisador num tempo de reação 8 horas. Os catalisadores utilizados foram os complexos de ferro $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$, cobre $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{BMTEA})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ e cobalto $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$. As faixas de temperatura, concentração de catalisador, concentração de oxidante e o tempo de reação, estudadas nos planejamentos estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições experimentais para oxidação de valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando os complexos biomiméticos de ferro (Fe), cobre (Cu) e cobalto (Co) como catalisadores, onde o tempo de reação foi de 8 horas.

<i>Experimento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Catalisador (molar)</i>	<i>Razão (Oxid/Subst)</i>
1	30	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	1:1 (0,77 mol.L ⁻¹)
2	70	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	1:1 (0,77 mol.L ⁻¹)
3	30	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	1:1 (0,77 mol.L ⁻¹)
4	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	1:1 (0,77 mol.L ⁻¹)
5	30	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	3:1 (2,31 mol.L ⁻¹)
6	70	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	3:1 (2,31 mol.L ⁻¹)
7	30	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	3:1 (2,31 mol.L ⁻¹)
8	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	3:1 (2,31 mol.L ⁻¹)
9	50	$1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	2:1 (1,54 mol.L ⁻¹)
10	50	$1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	2:1 (1,54 mol.L ⁻¹)
11	50	$1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	2:1 (1,54 mol.L ⁻¹)

3.4. Brancos das reações

Para avaliar a influência das variáveis na reação de oxidação foram realizadas reações de branco. As reações controle (branco) foram realizadas com base no procedimento utilizado para oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja no tempo de 8 horas, conforme descrito no item 3.3. Foram realizadas seis reações, as condições experimentais 1 e 2 com 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja mais 17 mL de acetonitrila variando a temperatura em 30 e 70°C, respectivamente, não foi utilizado catalisador e oxidante. Condição experimental 3 com 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa de laranja mais 17mL de acetonitrila e 2,31 mol.L⁻¹ de oxidante (peróxido de hidrogênio), não foi utilizado catalisador. Condições experimentais 4, 5 e 6 com 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa de laranja mais 17mL de acetonitrila, utilizando $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dos catalisadores de ferro, cobre e

cobalto, respectivamente, não foi utilizado oxidante. As reações foram interrompidas com a adição de 3 g de sulfito de sódio anidro (Na_2SO_3) apenas nas reações onde houve adição de peróxido de hidrogênio. O planejamento para as reações controle está apresentadas na Tabela B.1 (Apêndice B).

3.5. Cinética da reação

O estudo cinético da reação foi realizado empregando-se o mesmo procedimento utilizado na reação de oxidação do valenceno descrito no item 3.3, variando-se a concentração de catalisador. Foram realizados 12 experimentos para cada catalisador, totalizando 24 experimentos. A temperatura e a concentração de peróxido de hidrogênio foram mantidas constantes em 70°C e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente. A fase oleosa concentrada de laranja foi mantida em $0,77 \text{ mol.L}^{-1}$. As reações foram estudadas por um tempo de 24 h. A quantidade de catalisador foi variada de $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Neste estudo cinético foram utilizados apenas os complexos de ferro e cobalto, tendo em vista que os mesmos apresentaram maiores rendimentos em nootkatona durante as reações do planejamento experimental. As reações para avaliação da cinética foram baseadas na condição experimental 8 do planejamento experimental (Tabela 1), pois foi a que conduziu aos melhores resultados.

Neste caso, as reações foram interrompidas com a adição de 6 g de sulfito de sódio anidro (Na_2SO_3), pois se utilizou o dobro de peróxido em relação ao planejamento inicial. O meio reacional foi então filtrado e o sobrenadante estocado sob refrigeração (4°C).

Cabe ressaltar que os experimentos foram conduzidos de forma destrutiva, em vários reatores, um para cada tempo, para evitar a entrada de ar no reator descartar a amostragem, já que a atmosfera de cada reator foi trocada por argônio. As condições experimentais das reações utilizando os complexos de ferro e cobalto estão apresentadas nas Tabelas C.1, C.2, C.3 e C.4 (Apêndice C).

3.6. Análises cromatográficas dos resultados das reações

Antes de serem analisadas, 500 µL de amostra foram diluídos em 1 mL de diclorometano (Merck-99,9%), isto porque a mistura oxidada tende a formar duas fases, o que pode “mascarar” os resultados. Com a utilização do solvente diclorometano a amostra fica homogênea permitindo uma maior confiabilidade nos resultados obtidos. Os produtos da reação foram analisados por cromatografia gasosa (CG-MS, Shimadzu, modelo QP5050A) utilizando uma coluna DB-5.

Para identificação do tempo de retenção dos compostos de interesse (valenceno e nootkatona), foram injetados padrões de valenceno 80% (Aripe Citrus) isolado a partir da Fase Oleosa de Laranja Concentrada (17% valenceno) e nootkatona 98% (Aripe Citrus) isolado a partir do Grapefruit Oil Cold-Pressed. Cabe ressaltar que o composto nootkatol, um intermediário de interesse na reação de oxidação de valenceno a nootkatona, não apresenta um padrão comercial disponível.

A programação utilizada para análise dos produtos das reações de oxidação do valenceno, presente na fase oleosa concentrada de laranja, foi a seguinte; temperatura de 280°C para o detector e 300°C para o injetor, com a seguinte programação da temperatura da coluna (DB-5 - 30m x 0,25mm x 25µm): 50°C (3min), 4°C/min até 300°C. Tempo da corrida de 65,5 min e volume de injeção de 1,0 µL.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo estão descritos os resultados obtidos nas reações de oxidação do valenceno, que foram realizadas utilizando-se os complexos biomiméticos de ferro, cobre e cobalto como catalisadores.

4.1. Reações de oxidação da fase oleosa concentrada de laranja

A fase oleosa concentrada da laranja foi injetada no cromatógrafo para identificar os compostos presentes na fase oleosa concentrada de laranja. A Figura 21 apresenta o cromatograma da fase oleosa concentrada de laranja.

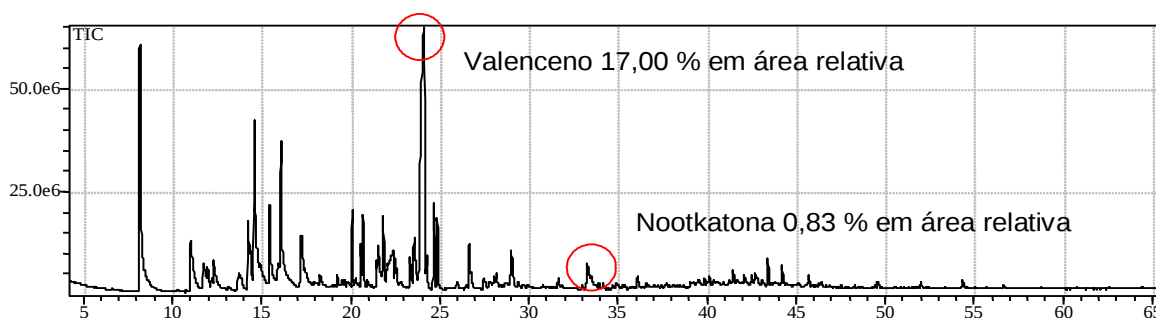


Figura 21 - Cromatograma da fase oleosa concentrada de laranja utilizada nas reações de oxidação.

É possível observar que originalmente a fase oleosa apresenta aproximadamente 17,00 % de valenceno e cerca de 0,83 % de nootkatona. Estas percentagens dos compostos presentes na fase oleosa foram tomadas como padrões de referência para as reações de oxidação no presente trabalho. Os valores de concentração de todos os compostos presentes na fase oleosa concentrada de laranja encontram-se apresentados na Tabela A.1 (Apêndice A).

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos com base nas reações de branco realizadas como forma de avaliar qual das variáveis utilizadas no processo (temperatura, concentração de catalisador e concentração de oxidante) estariam sendo decisivas nas reações de oxidação.

Tabela 2 - Resultado dos brancos da reação de oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, no período de 8 horas.

Experimento	% de área relativa dos compostos*							
	<i>Limoneno</i>	<i>Carvona</i>	<i>Valenceno</i>	<i>Nootkatona</i>	<i>Aldeídos</i>	<i>Álcoois</i>	<i>Ésteres</i>	<i>Éteres</i>
Fase oleosa	10,80	5,78	17,00	0,83	12,82	10,53	12,60	6,98
1 ^a	6,13	-	12,51	1,31	15,00	23,32	16,08	7,04
2 ^b	6,26	-	12,82	1,39	13,50	20,63	14,08	8,99
3 ^c	6,58	**	13,52	1,62	9,35	22,48	14,59	10,93
4 ^d	6,89	-	15,61	1,41	14,33	22,33	15,22	5,32
5 ^e	5,56	-	12,89	1,30	12,77	21,26	13,73	7,88
6 ^f	5,94	**	12,58	1,27	13,18	20,08	15,36	6,10

- percentual de carvona não encontrado.

* % de área obtido em relação às áreas dos picos normalizados de cada amostra experimental.

** Pico referente a carvona presente no mesmo tempo de retenção (pico) do *cis* carveol.

^a 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 30 °C, sem oxidante, sem catalisador.

^b 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 70 °C, sem oxidante, sem catalisador.

^c 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 2,31 mol.L⁻¹ de oxidante; 70 °C, sem catalisador.

^d 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹ de ferro; 70 °C, sem oxidante.

^e 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹ de cobre; 70 °C, sem oxidante.

^f 0,77 mol.L⁻¹ da fase oleosa concentrada de laranja; 17 mL de acetonitrila; 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹ de cobalto; 70 °C, sem oxidante.

Através do estudo dos brancos da reação foi possível observar que nas condições experimentais 1 e 2 com a fase oleosa concentrada de laranja e acetonitrila, tanto a 30 como a 70°C, houve uma baixa concentração de valenceno a nootkatona. Na condição experimental 3 com a mistura da fase oleosa mais acetonitrila e o oxidante houve a maior concentração, obtendo-se 1,62 % de nootkatona. A partir destes dados pode-se presumir que a presença do oxidante, neste caso, peróxido de hidrogênio tem influência na concentração de valenceno em nootkatona durante a reação de oxidação. Já nas condições experimentais 4, 5 e 6 onde foram utilizadas a fase oleosa, com acetonitrila como solvente, e os catalisadores de ferro, cobre e cobalto, respectivamente, os valores ficaram próximos, ressaltando a pequena diferença de concentração para a reação utilizando o catalisador de ferro (1,41%).

Em termos de classes químicas, verifica-se que as concentrações de aldeídos (15,00%), álcoois (23,32%) e ésteres (16,08%) são maiores na temperatura de 30°C, utilizando apenas a fase oleosa concentrada de laranja e acetonitrila na reação. Em relação aos éteres a condição experimental 3 foi mais eficiente obtendo um rendimento de 10,93%, onde há presença do oxidante (H₂O₂).

Baseando-se nos resultados obtidos, pode-se concluir que o oxidante influencia positivamente a reação de oxidação, atuando neste meio como um agente “ativador”, no que se refere aos complexos biomiméticos utilizados como catalisadores da reação de oxidação. Já sobre a oxidação do limoneno, observa-se que nas condições experimentais 1, 2, 4 e 5 não é possível visualizar a concentração de carvona que foi obtida e isso pode estar relacionado com formação de compostos secundários. Nas condições experimentais 3 e 6 o pico referente a carvona aparece no mesmo tempo de retenção (pico) que o composto *cis* carveol. Portanto, mesmo sabendo-se que a carvona está presente nestas condições, não foi possível quantificá-la.

O resultados do planejamento experimental utilizado nas reações de oxidação do valenceno, presente na fase oleosa concentrada de laranja, estão apresentados na Tabela 3 .

Tabela 3 - Resultados da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, durante 8 horas de reação.

<i>% de área relativa dos compostos *</i>						
<i>Experimento</i>	<i>Ferro</i>		<i>Cobre</i>		<i>Cobalto</i>	
	<i>Valenceno</i>	<i>Nootkatona</i>	<i>Valenceno</i>	<i>Nootkatona</i>	<i>Valenceno</i>	<i>Nootkatona</i>
Fase oleosa	17,00	0,83	17,00	0,83	17,00	0,83
1	15,81	2,31	16,47	1,85	11,87	2,03
2	14,78	2,63	15,92	1,34	14,64	2,49
3	12,40	1,52	14,37	2,12	13,85	2,96
4	11,30	3,14	16,63	1,78	16,98	2,69
5	10,64	1,59	13,58	1,87	12,55	2,45
6	15,05	2,86	10,71	2,30	13,40	2,78
7	15,24	3,15	12,78	2,00	11,94	2,43
8	13,01	3,86	13,04	2,03	12,16	3,97
9	14,95	1,71	14,64	2,11	13,39	4,38
10	16,05	2,59	14,89	2,58	14,89	2,48
11	15,20	2,29	13,60	2,25	15,26	2,71

* % de área obtido em relação às áreas dos picos normalizados de cada amostra experimental.

Através da Tabela 3 pode-se observar que os experimentos usando o catalisador de ferro apresentaram uma concentração de nootkatona entre 1,52 a 3,86%, onde a condição experimental 8 apresentou a melhor concentração em nootkatona. Com o catalisador de cobre obteve-se uma concentração de nootkatona de 1,34 a 2,58 %. Neste caso, a maior concentração ocorreu na condição experimental 10, que é uma triplicata do ponto central. Considerou-se como melhor resultado a condição experimental 6 (2,30%). Já com o uso do catalisador de cobalto os valores de concentração de nootkatona oscilam entre 2,03 a 4,38 %, mas como o maior valor de concentração em nootkatona é referente ao ponto central (experimento 9), considerou-se como melhor resultado a condição experimental 8, onde a concentração foi de 3,97%. Na condição experimental 9 que apresentou uma concentração de 4,38% em nootkatona utilizando o catalisador de cobalto, nota-se que este valor está longe dos demais, fato esse que pode estar relacionado com erro experimental ou erro na análise (limpeza inadequada da coluna).

Com base nestes resultados pode-se observar que na condição experimental 8 ambos os catalisadores de ferro e cobalto, apresentaram boa transformação de valenceno em nootkatona. Cabe ressaltar que essa condição experimental refere-se à maior temperatura (70°C), maior concentração de catalisador ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e maior concentração de oxidante ($2,31 \text{ mol.L}^{-1}$). Percebe-se então que o catalisador de cobre não demonstrou boa transformação de valenceno em nootkatona, pois seus valores de concentração oscilam muito e não ultrapassam a 3,00 %.

A Figura 22 apresenta o cromatograma da condição experimental 8 (Tabela 1), com o catalisador de ferro.

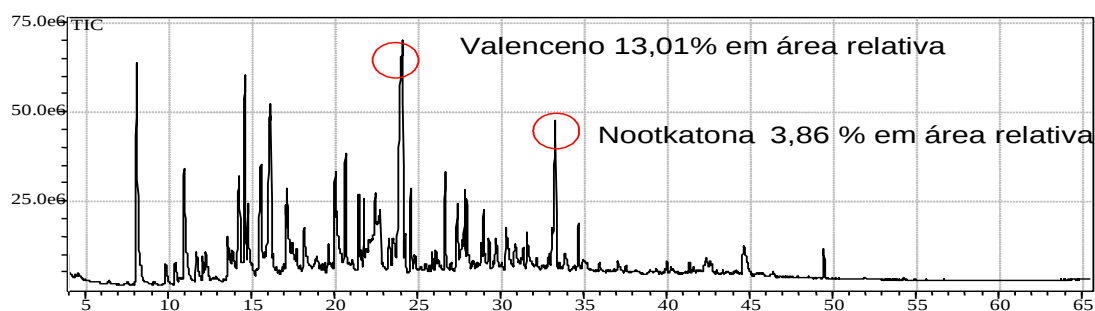


Figura 22 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C .

A oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de ferro como catalisador se mostrou eficiente na transformação de valenceno em nootkatona, se considerado que inicialmente a fase oleosa utilizada na oxidação apresentava 17,00% em área relativa de valenceno e 0,83% de nootkatona.

A Figura 23 apresenta o cromatograma da condição experimental 6 (Tabela 1), com o catalisador cobre.

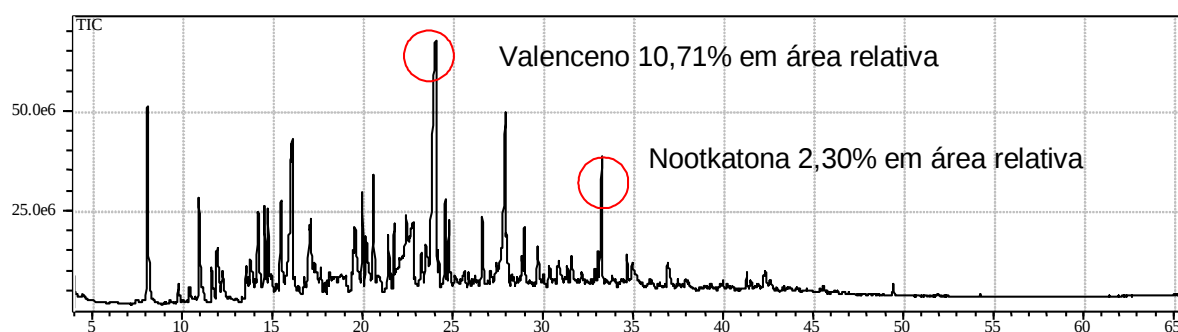


Figura 23 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 6: catalisador de cobre = $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C .

Como se verifica através da Figura 23 a condição experimental 6 foi a que propiciou melhor transformação de valenceno (10,71%) em nootkatona (2,30%) com

o complexo de cobre. A Figura 24 apresenta o cromatograma da condição experimental 8 (Tabela 1), com o catalisador de cobalto.

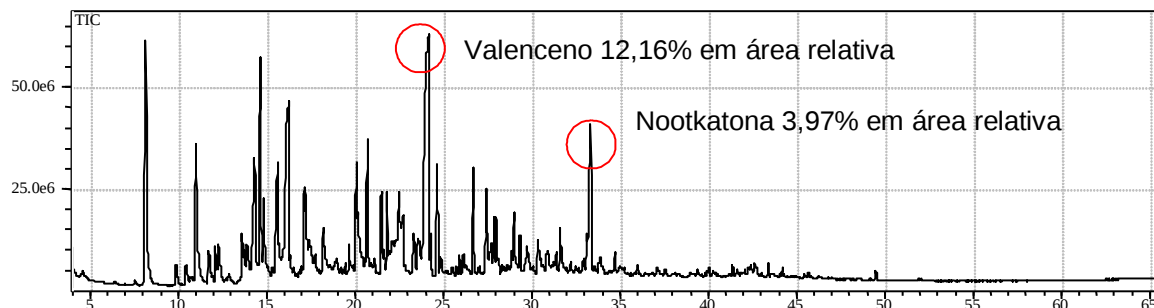


Figura 24 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8: catalisador de cobalto= $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $2,31 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C .

Na Figura 24 observa-se que com o uso do catalisador de cobalto obteve-se a maior concentração em nootkatona, se comparado com os valores iniciais presentes na fase oleosa concentrada de laranja (Figura 21) e com os resultados obtidos com os catalisadores de ferro (Figura 22) e cobre (Figura 23).

Executado o planejamento de experimentos, verificou-se que na condição experimental 8, tanto para o ferro como cobalto, foi o que conduziu a melhor transformação de valenceno em nootkatona.

Durante a oxidação, além da transformação de valenceno em nootkatona, verifica-se a produção de outros compostos. Sabe-se que a fase oleosa concentrada de laranja possui, além de valenceno e nootkatona, outros compostos de interesse bem como cerca de 10,80% de limoneno e 5,78% de carvona +neral, além de outros produtos oxidados.

Como no presente trabalho foi utilizada a fase oleosa concentrada de laranja como substrato durante as reações, que se constitui uma mistura multicomponente, outras oxidações podem ocorrer, além da de interesse (valenceno a nootkatona). Neste caso é interessante observar o que ocorre durante toda a reação, tendo como objetivo verificar a eficiência dos catalisadores biomiméticos utilizados, para as

reações de oxidação dos compostos presentes na fase oleosa concentrada da laranja. A caracterização química da fase oleosa concentrada de laranja está apresentada na Tabela A.1 (Apêndice A). A Tabela 4 apresenta os resultados da oxidação do limoneno presente na fase oleosa concentrada de laranja em carvona, utilizando os complexos biomiméticos de ferro, cobre e cobalto.

Tabela 4 - Resultados das reações de oxidação do limoneno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisadores biomiméticos de ferro, cobre e cobalto, durante 8 horas de reação.

<i>% de área relativa dos compostos *</i>						
<i>Experimento</i>	<i>Ferro</i>		<i>Cobre</i>		<i>Cobalto</i>	
	<i>Limoneno</i>	<i>Carvona</i>	<i>Limoneno</i>	<i>Carvona</i>	<i>Limoneno</i>	<i>Carvona</i>
Fase oleosa	10,80	5,78	10,80	5,78	10,80	5,78
1	5,98	2,16	6,45	2,06	5,41	**
2	6,60	2,21	8,00	1,86	7,64	3,56
3	5,86	**	7,51	6,46	11,11	7,63
4	3,59	**	6,30	2,07	8,49	6,32
5	8,95	**	4,99	5,73	7,58	7,68
6	5,27	2,12	3,42	5,31	6,55	4,18
7	6,97	5,20	4,93	2,97	6,86	7,77
8	5,97	7,10	5,05	2,94	4,89	2,40
9	6,47	2,12	5,71	5,70	6,48	4,61
10	8,53	6,86	6,21	5,45	7,39	2,00
11	7,66	2,32	4,91	6,90	5,02	2,07

* % de área obtido em relação às áreas dos picos normalizados de cada amostra experimental.

** Pico referente a carvona presente no mesmo tempo de retenção (pico) do *cis*-carveol.

Os resultados obtidos demonstram que a utilização do catalisador de ferro se mostrou eficiente na transformação de limoneno em carvona, apresentando até 7,10 % de carvona onde a condição experimental 8 leva à melhor concentração. Com o catalisador de cobre houve uma variação na concentração de carvona 1,86 a 6,90 %. Neste caso, a maior concentração ocorreu na condição experimental 3 com 6,46% de carvona. Percebe-se então que o catalisador de cobre também propiciou boas concentrações de limoneno em carvona. Porém com o uso do catalisador cobalto os valores de concentração de carvona no produto final variam entre 2,00 a 7,77 %, sendo o maior valor de concentração referente à condição experimental 7. Nas condições experimentais 3, 4 e 5 com o complexo biomimético de ferro e na condição experimental 1 para o complexo biomimético de cobalto o pico da carvona aparece no mesmo tempo de retenção (pico) que o composto *cis* carveol. Portanto, mesmo sabendo da presença de carvona nestas condições, não foi possível quantificá-las.

Foi realizado um estudo dos compostos oriundos das reações de oxidação, dividindo os mesmos em classes químicas (aldeídos, álcoois, ésteres e éteres). Agrupou-se os compostos oxidados em suas respectivas classes químicas, sendo que os resultados das transformações de limoneno à carvona e de valenceno à nootkatona já foram apresentados anteriormente. Os demais compostos oxidados foram então agrupados nas suas respectivas classes, dentre estes incluem-se os compostos de: *cis* e *trans*-carveol, decanal, nonanal, α -terpineol, *cis* e *trans*-limoneno, β -beta cubebeno e β -elemeno, etc.

Na Tabela 5 é apresentado o agrupamento dos compostos oxidados dividindo os mesmos nas classes químicas citadas, obtidos utilizando o complexo de ferro como catalisador.

Tabela 5 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de ferro como catalisador, no período de 8 horas.

Experimento	% de área relativa dos compostos oxidados			
	<i>Aldeídos</i>	<i>Álcoois</i>	<i>Ésteres</i>	<i>Éteres</i>
Fase oleosa	12,82	10,53	12,60	6,98
1	16,37	16,30	11,28	5,72
2	10,81	15,10	13,94	4,87
3	9,60	26,16	16,44	7,16
4	6,73	20,14	15,84	7,19
5	14,97	26,21	14,67	5,10
6	11,89	12,06	18,81	6,57
7	11,56	10,16	13,49	6,27
8	9,37	13,29	12,63	9,70
9	15,64	13,28	15,53	4,90
10	12,32	11,48	14,95	6,83
11	13,45	14,51	15,64	5,17

Na Tabela 5 é apresentado o percentual dos compostos oxidados, observando-se que na condição experimental 1 houve a maior produção de aldeídos (16,37%), condição experimental 5 produção de álcoois (26,21%), condição experimental 6 produção de ésteres (18,81%) e na condição experimental 8 produção de éteres (9,70%). A utilização do complexo biomimético de ferro apresentou uma maior concentração de compostos oxidados se comparado a fase oleosa concentrada de laranja. Portanto, com a utilização do complexo de ferro a classe química dos álcoois apresentou maior concentração.

Na Tabela 6 é apresentado o agrupamento dos compostos oxidados em termos de classes químicas, utilizando o complexo de cobre como catalisador.

Tabela 6 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de cobre como catalisador, no período de 8 horas.

Experimento	% de área relativa dos compostos oxidados			
	<i>Aldeídos</i>	<i>Álcoois</i>	<i>Ésteres</i>	<i>Éteres</i>
Fase oleosa	12,82	10,53	12,60	6,98
1	9,16	14,67	16,60	5,84
2	9,17	19,87	18,72	6,31
3	3,59	10,63	18,85	4,58
4	12,09	13,46	21,41	4,54
5	5,19	11,84	20,41	7,74
6	2,92	9,59	18,88	7,38
7	5,03	11,27	17,94	7,48
8	3,93	13,26	18,69	4,64
9	3,13	14,44	22,58	5,15
10	4,58	8,35	15,36	5,89
11	5,03	10,76	20,19	7,78

Na Tabela 6 é apresentado o percentual dos compostos oxidados, cabendo observar que na condição experimental 4 houve a maior produção de aldeídos (12,09%), condição experimental 2 produção de álcoois (19,87%), condição experimental 9 produção de ésteres (22,58%) e na condição experimental 11 produção de éteres (7,78%), mas considerou-se a condição experimental 5 (7,74), pois a condição experimental 11 refere-se a triplicata do ponto central (experimento 9). Com a utilização do complexo biomimético de cobre obteve-se uma maior concentração de compostos oxidados se comparado a fase oleosa concentrada de laranja, com exceção da classe química dos aldeídos onde a concentração foi inferior. Com a utilização do complexo biomimético de cobre a maior concentração de composto oxidados e da classe química dos ésteres.

A Tabela 7 apresenta o agrupamento dos compostos oxidados, utilizando desta forma o complexo de cobalto como catalisador.

Tabela 7 - Resultados em termos de classes químicas da oxidação da fase oleosa concentrada de laranja utilizando o complexo biomimético de cobalto como catalisador, no período de 8 horas.

<i>Experimento</i>	<i>% de área relativa dos compostos oxidados</i>			
	<i>Aldeídos</i>	<i>Álcoois</i>	<i>Ésteres</i>	<i>Éteres</i>
Fase oleosa	12,82	10,53	12,60	6,98
1	10,37	23,17	16,14	6,57
2	10,45	16,18	15,61	8,15
3	10,37	9,02	12,66	7,33
4	6,40	13,96	14,18	7,62
5	12,43	14,41	14,42	6,79
6	11,81	19,24	11,02	8,92
7	11,92	13,34	11,22	8,95
8	11,05	14,90	17,66	9,19
9	8,82	8,87	13,98	8,21
10	13,57	18,50	15,95	7,48
11	13,89	16,72	18,70	6,80

Na Tabela 7 é apresentado o percentual dos compostos oxidados, cabe notar que na condição experimental 11 houve a maior produção de aldeídos (13,89%), mas considerou-se a condição experimental 5 (12,43%), pois a condição experimental 11 refere-se a triplicata do ponto central (experimento 9). A condição experimental 1 produção de álcoois (23,17%), condição experimental 8 produção de ésteres e éteres (17,66 e 9,19%). A utilização do complexo biomimético de cobalto apresentou uma maior concentração de compostos oxidados se comparado a fase oleosa concentrada de laranja, com exceção da classe química dos aldeídos onde a concentração foi inferior. Portanto, com a utilização do complexo biomimético de

cobalto a maior concentração de composto oxidados e da classe química dos álcoois.

4.2. Estudo cinético

Com base nos resultados obtidos na reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando o catalisador cobre, verifica-se que não foram satisfatórios se comparados com os resultados obtidos utilizando os catalisadores de ferro e cobalto. Portanto no estudo cinético foram utilizados os complexos biomiméticos de ferro e cobalto, os quais demonstraram ser mais eficientes nas reações de oxidação de valenceno a nootkatona.

Através dos resultados obtidos no planejamento experimental, verifica-se que a condição experimental 8, tanto para os catalisadores de ferro como de cobalto, apresentaram os melhores resultados de transformação de valenceno em nootkatona. Essa condição experimental serviu de base para o estudo cinético da reação, onde variou-se o tempo de oxidação da reação entre 4 e 24 h.

Os resultados referentes a cada experimento de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja estão apresentados nas Figuras 25 a 28. Os dados investigados para a construção dos gráficos estão apresentados no Apêndice D.

A Figura 25 mostra o comportamento cinético da reação de oxidação do valenceno a nootkatona utilizando o complexo de ferro ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) como catalisador.

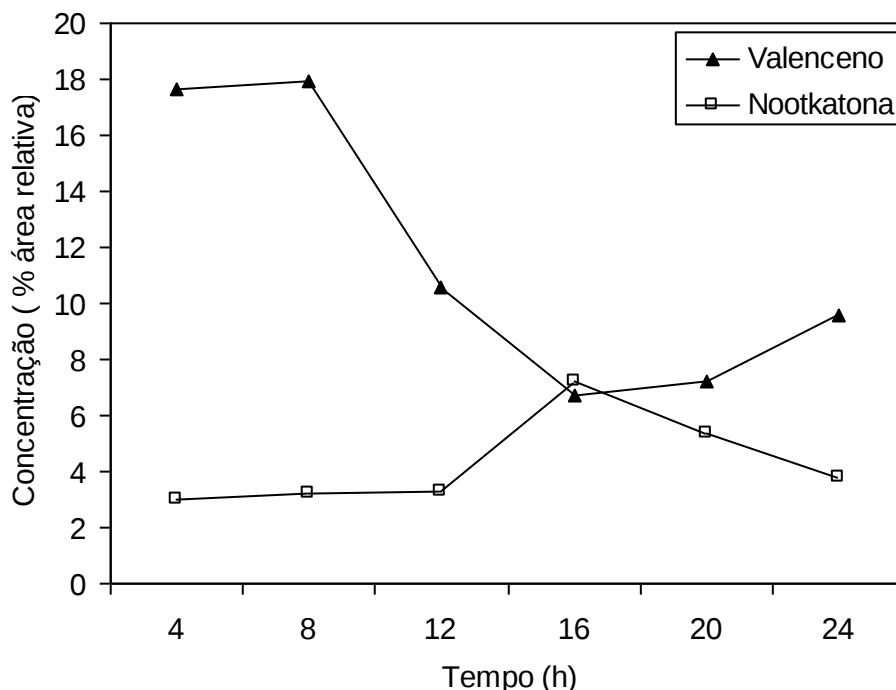


Figura 25 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisador biomimético de ferro ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C .

Observa-se que nos tempos de 4, 8 e 12 horas, houve um pequeno aumento do teor de nootkatona, cerca de 3,00 a 3,27%, já a concentração de valenceno caiu bruscamente não refletindo necessariamente uma concentração em nootkatona. Presume-se então que pode estar havendo a formação de um intermediário, o qual não pôde ser identificado no presente trabalho. Já em 20 e 24 h o teor de nootkatona começa a cair. Portanto, no tempo de 16 h obtém-se a concentração máxima de nootkatona (7,21%) e conseqüentemente ocorre o maior consumo de valenceno.

A Figura 26 mostra o comportamento cinético da reação de oxidação do valenceno a nootkatona utilizando o complexo de ferro ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) como catalisador.

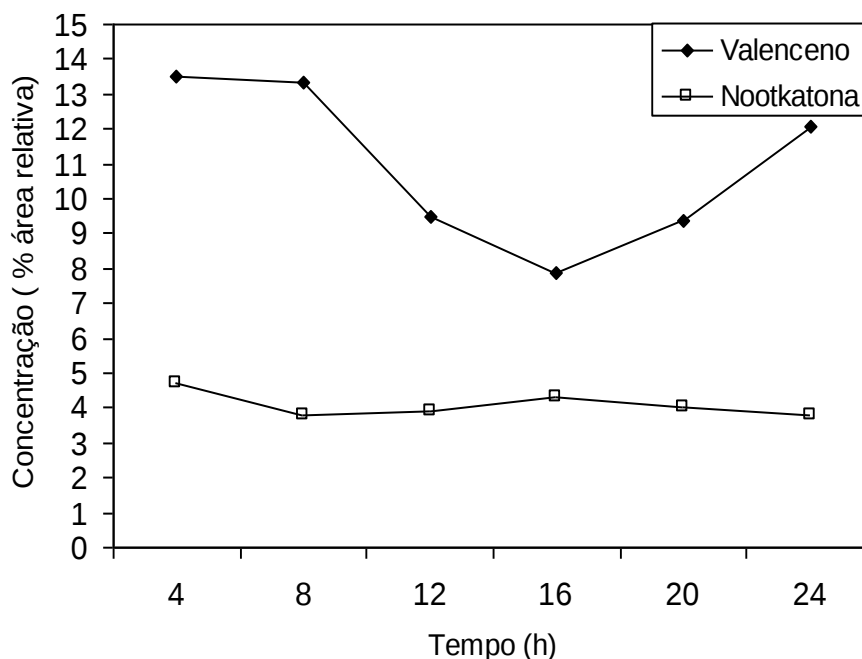


Figura 26 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando o catalisador biomimético de ferro ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C .

Observa-se que em 4 h o valor da concentração de nootkatona é de 4,74 %, diminuindo com o passar do tempo. Esta condição experimental não demonstrou eficiência na transformação de valenceno a nootkatona se comparada com os resultados apresentados na Figura 25, onde também foi utilizado o catalisador ferro. Nota-se que nesta reação a quantidade de catalisador é o dobro da utilizado anteriormente, o que pode ter contribuído para o baixo rendimento de nootkatona. A mistura pode ter saturado por “excesso” de catalisador, inibindo assim a atuação do mesmo no meio reacional.

A Figura 27 apresenta o comportamento cinético da reação de oxidação do valenceno a nootkatona utilizando o complexo de cobalto ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), como catalisador.

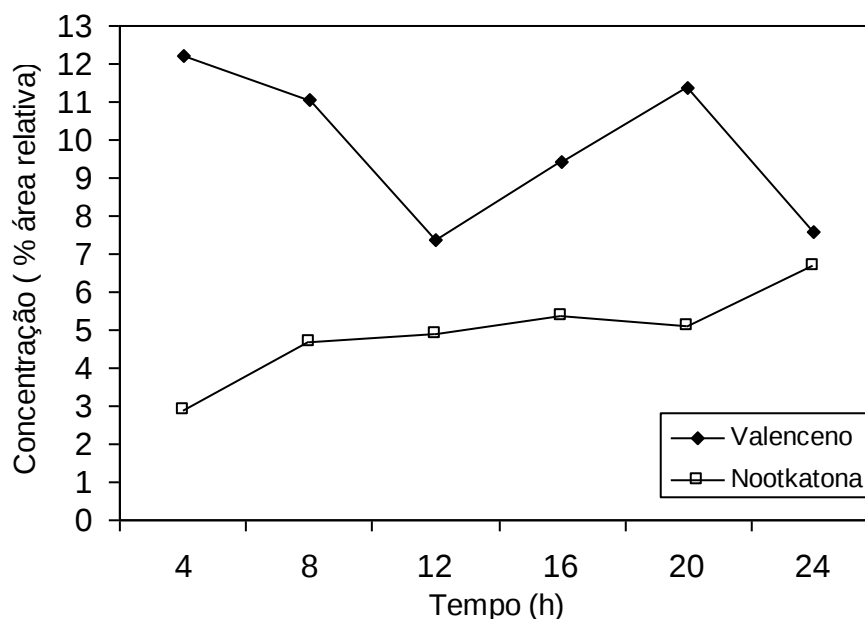


Figura 27 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja utilizando catalisador biomimético de cobalto ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70° C .

Verifica-se que de até 16 h ocorre um aumento gradativo de nootkatona, concentração máxima em 16 h (5,37 %). Em 20 h ocorre uma pequena queda da concentração de nootkatona, mas ao atingir 24 h a concentração atinge seu ápice, chegando a um teor de nootkatona de 6,70%. Neste caso, com a utilização de cobalto como catalisador na reação, a concentração de nootkatona aumenta com o passar do tempo. Nota-se que o teor de valenceno oscila muito durante o estudo cinético nesta condição; embora uma explicação clara para este fato seja difícil, pode-se sugerir que por se tratar de uma reação com a fase oleosa e considerando que há diversos outros compostos nesta mistura, o valenceno pode estar sofrendo a influência de outros compostos.

A Figura 28 apresenta o comportamento cinético da reação de oxidação do valenceno a nootkatona utilizando o complexo de cobalto ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) como catalisador .

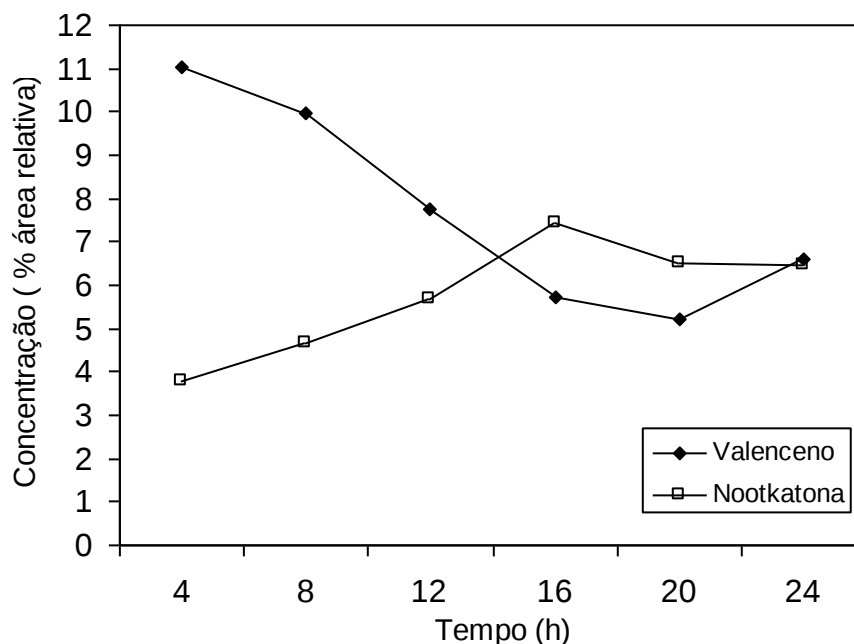


Figura 28 - Oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja concentrada utilizando catalisador biomimético de cobalto ($3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio a 70°C .

Observa-se um aumento do percentual de nootkatona até 12 h de reação, resultando na maior concentração de nootkatona de 7,42 % no tempo de 16 horas. Após 20 h de reação, o valor da concentração diminui. Observa-se que à medida que a concentração aumenta o teor de valenceno cai bruscamente, até 20 h de reação. Quando se atinge 24 h, ocorre um aumento do percentual de valenceno, fato esse que pode ser explicado se considerar que existem outros compostos presentes na fase oleosa que podem estar influenciando a reação.

Com base no estudo cinético realizado utilizando os catalisadores de ferro e cobalto, pode-se considerar que os resultados obtidos foram satisfatórios em termos de concentração de valenceno a nootkatona, tendo em vista que no presente trabalho utiliza-se a fase oleosa concentrada de laranja que é uma mistura multicomponente, e catalisadores biomiméticos. Em contrapartida, os resultados encontrados na literatura empregam valenceno puro (como substrato) e microorganismos. Trabalhos presentes na literatura relatam que a utilização de

microrganismos tem demonstrado eficiência na transformação de valenceno puro a nootkatona em um tempo de 20 dias, como no estudo apresentado por Furusawa *et al.* (2005), onde são utilizadas varias espécies de microorganismos, como fungos, algas verdes, que atuam como catalisadores da reação.

Cabe ressaltar que no presente trabalho não foi possível identificar o composto nootkatol, pois sendo um intermediário da reação de oxidação de valenceno a nootkatona, torna-se difícil identificá-lo, também pelo fato de não existir um padrão cromatográfico deste composto.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1. Conclusões

No presente trabalho foram apresentados estudos de produção de nootkatona através da oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja, bem como o estudo de outros compostos oxidados durante as reações. Através dos experimentos realizados pôde-se observar que o método utilizado se mostrou eficiente na transformação de valenceno em nootkatona, particularmente na temperatura de 70°C. Através dos cromatogramas obtidos pôde-se observar que houve uma boa concentração em nootkatona, utilizando-se diferentes catalisadores mais especificamente ferro e cobalto. A utilização do catalisador cobre por sua vez não se mostrou eficiente na transformação de valenceno em nootkatona.

Através do estudo cinético com a utilização do catalisador biomimético de ferro, com o passar do tempo, a concentração de valenceno a nootkatona vai diminuindo. Já com a utilização do catalisador biomimético de cobalto o inverso ocorre, quanto mais longo o tempo, maior a produção de nootkatona. Cabe ressaltar que ambos os catalisadores apresentaram bons resultados nas reações de oxidação, atingindo concentrações de 7,21% e 7,42%, para os catalisadores de ferro e cobalto, respectivamente.

Além da oxidação do valenceno a nootkatona, também ocorre a oxidação de limoneno a carvona e demais compostos presentes na fase oleosa. Os resultados desta oxidação demonstram que os complexos biomiméticos de ferro, cobre e cobaltos se mostraram eficientes na transformação de limoneno a carvona.

Conclui-se, então, que os catalisadores biomiméticos de ferro e cobalto se mostraram eficientes na transformação de valenceno a nootkatona, utilizando a fase oleosa concentrada de laranja como substrato, apontando assim uma nota promissora para transformação do valenceno.

5.2. Sugestões para trabalhos futuros

Com base nos resultados obtidos, sugerem-se para trabalhos futuros de pesquisa as seguintes propostas:

- Utilização do valenceno puro, como substrato;
- Aplicação de outro oxidante que substitua o peróxido de hidrogênio, devido ao alto custo em possíveis aplicações em escalas maiores, como por exemplo, ar (borbulhamento), ozônio, UV (Ultravioleta);
- Substituição do argônio, por um gás inerte de menor custo, como o nitrogênio;
- Aumento da temperatura e razão do oxidante/ substrato;
- Análises mais específicas dos resultados por cromatografia 2D;
- Análises quantitativas de valenceno e nootkatona em concentração mássica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAOVILLA, M.; ESMELINDRO, M. C.; PERGHER, S. B. C.; BORTOLUZZI, A. J.; ANTUNES, O. A. C.; FERNANDES, C. **Synthesis and structural characterization of a new Co(II) complex.** In: XIII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry. 2006, Fortaleza. CD-ROM, 2006.
- CITROSUCO, Disponível em: <http://www.citrosuco.com.br>. Acesso em 03 de dezembro de 2008.
- COSTA, A. A.; **Síntese, Caracterização e Aplicação de Catalisadores Metaloporfirínicos Suportados em MCN-41.** Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília-UnB, 2006. Disponível em: http://bdtd.bce.unb.br/tesesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1124. Acesso em 24 de julho de 2008.
- ESMELINDRO, M. C. **Síntese, caracterização e atividade catalítica de complexos de ferro (III) e cobre (II): modelos sintéticos para oxigenases de ferro e cobre.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.
- FURUSAWA, M.; HASHIMOTO, T.; NOMA, Y.; ASAKAWA, Y. **Highly Efficient Production of Nootkatone, the Grapefruit Aroma from Valencene, by Biotransformation.** Chemical Pharmaceutical Bulletin, v. 53, nº11, pp 1513-1514, 2005.
- GRINGS, M. B. **Estudo do comportamento de fases dos óleos essenciais de limão Taiti e Bergamota em CO₂.** Dissertação de Mestrado-URI-Campus Erechim, RS, 2004.
- GRUPO MONTECITRUS, Disponível em: <http://www.montecitrus.com.br>. Acesso em 3 de dezembro de 2008.
- ISOBIONICS, Disponível em: <http://www.isobionics.com/pagina11.html>. Acesso em 24 de outubro de 2008.

LASZLÓ, F. **Óleos Essenciais Cítricos**. Disponível em: <http://www.aromalandia1.hpg.ig.com.br/citricos.htm>. Acesso em: 16 de setembro de 2008.

KASPERA, R.; KRINGS, U.; NANZAD, T.; BERGER, R.G. **Bioconversion of (+)-valencene in submerged cultures of the ascomycete *Chaetomium globosum***. Applied Microbiology Biotechnology, v. 67, pp 477–483, 2005.

RDchemicals, Disponível em: <http://www.rdchemicals.com/=nootkatone>. Acesso em 29 de julho de 2008.

RIBEIRO, M. A.; ESQUÍVEL, M. M.; BERNARDO GIL, M. G. **A Extração Supercrítica e os Antioxidantes Naturais**. http://www.ordemengenheiros.pt/Portals/0/Ing98-DC_Quim4.pdf. Acesso em 16 de setembro de 2008.

SAKAMAKI, H.; ITOH, K.; TANIAI, T.; KITANAKA, S.; TAKAGI, Y.; CHAI, W.; HORIUCHI, C. A.; **Biotransformation of valencene by cultured cells of *Gynostemma pentaphyllum***. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 32, pp 103-106, 2005.

SAWAMURA, M.; SONG H. S.; CHOI H. S.; SAGAWA K.; UKEDA H. **Characteristic Aroma Components of Tosa-buntan (*Citrus grandis* Osbeck forma Tosa) Fruit**. Food Science and Technology Research, v. 7, nº1, pp 45-49, 2001.

SOWDEN, R. J.; YASMIN, S.; REES, N. H.; BELL, S. G.; WONG, L. **Biotransformation of the sesquiterpene (+)-valencene by cytochrome P450_{cam} and P450_{BM-3}**. Organic & Biomolecular Chemistry, v. 3, pp 57-64, 2005.

TETRA PAK ; **The Orange book**. Tetra Pak Processing Systems AB / Ruter Press, 1998.

ZAMPIERI, L. A. **Bioxidação Fúngica de Valenceno a Nootkatona, Bioflavorizante de *Grapefruit***. Dissertação de Mestrado-UNICAMP-Campinas, SP, 2006.

APÊNDICE A – COMPOSTOS PRESENTES NA FASE OLEOSA CONCENTRADA DE LARANJA

Tabela A.1 - Caracterização química da fase oleosa concentrada de laranja, utilizando a biblioteca do sistema CG/MS (Wiley 229).

<i>Fase oleosa da laranja</i>		<i>Fase oleosa concentrada de laranja</i>
Componente	%	%
etil butirato	0,004	nd
α -Tujeno	tr	tr
α -Pineno	0,34	tr
Camfeno	tr	tr
Sabineno	0,14	tr
β -Pineno	0,01	tr
β -Mirceno	1,37	tr
octanal	0,14	tr
delta-3-careno	0,11	tr
α -terpineno	tr	tr
p- cimeno	nd	tr
limoneno	95,24	10,80
(E)-beta-ocimeno	0,01	tr
gama-terpineno	0,01	tr
1-octanol	0,05	0,17
terpinoleno	0,03	0,11
linalol	0,36	3,37
nonanal	0,03	0,21
cis óxido de limoneno	0,04	0,83

trans óxido de limoneno	0,03	0,53
citronelal	0,02	0,30
4-terpineol + 1-nonanol	0,04	1,80
α -terpineol	0,05	2,03
decanal	0,20	4,26
octil acetato	0,01	0,68
trans-carveol	0,04	3,57
cis-carveol	0,04	2,49
neral + carvona	0,13	5,78
geranial	0,10	4,27
1-decanol	0,02	0,80
perila álcool	0,01	0,61
undecanal	0,05	0,38
neryl acetato	0,04	0,33
α -copaeno	0,04	1,45
geranil acetato	tr	0,14
β -cubebeno	0,03	1,94
β -elemeno	0,03	2,08
dodecanal + decil acetato	0,04	1,19
β - cariofileno	0,03	0,76
β -selineno	0,04	1,91
valenceno	0,60	17,00
delta-cadineno	0,04	1,26
óxido de cariofileno	nd	1,09
α -sinensal	0,01	0,12
nootkatona	0,02	0,83
TOTAL	99,54	73,42

nd: não identificado; tr:traços

Fonte: Aripe Citrus (Biocitrus)

APÊNDICE B – PLANEJAMENTO E CROMATOGRAMAS PARA OS BRANCOS DA REAÇÃO

Tabela B.1 - Matriz experimental dos brancos das reações.

<i>Experimento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>[Catalisador] molar</i>	<i>Razão (Oxid/Subst)</i>
1	30	—	—
2	70	—	—
3	70	—	3:1 (2,31 mol.L ⁻¹)
4	70	1,5x10 ⁻³ mol.L ⁻¹	—
5	70	1,5x10 ⁻³ mol.L ⁻¹	—
6	70	1,5x10 ⁻³ mol.L ⁻¹	—

- concentração de catalisador e de oxidante não foi utilizado nestas condições experimentais.

A seguir serão apresentados os cromatogramas referentes as seis reações de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja.

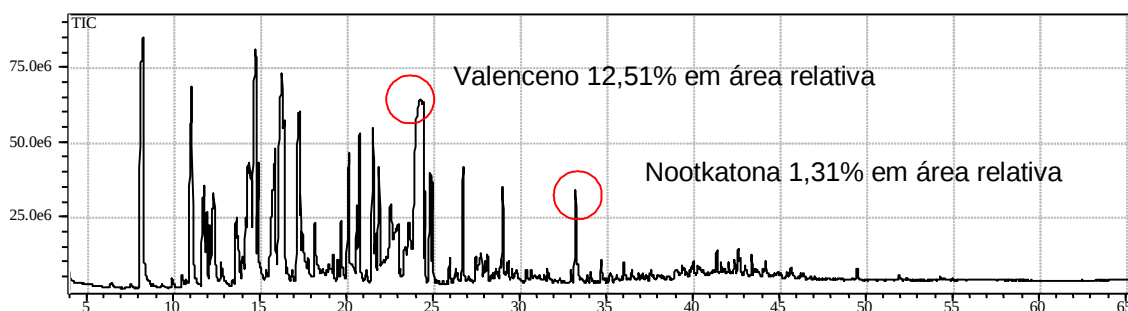


Figura B.1 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 1; temperatura = 30°C.

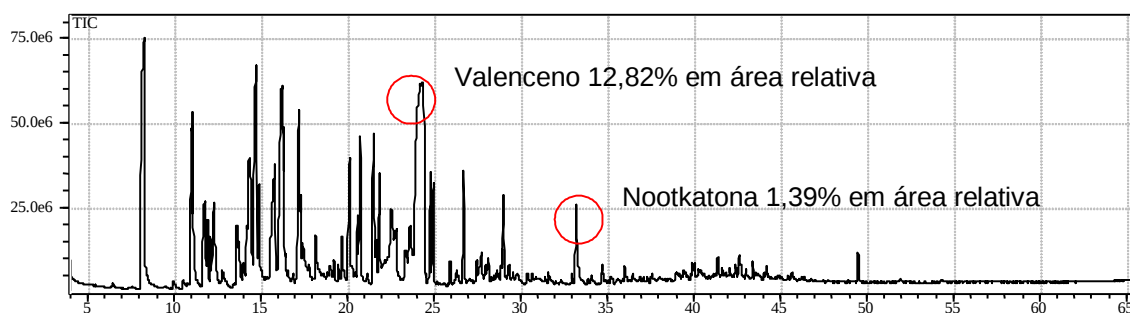


Figura B.2 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 2; temperatura = 70°C.

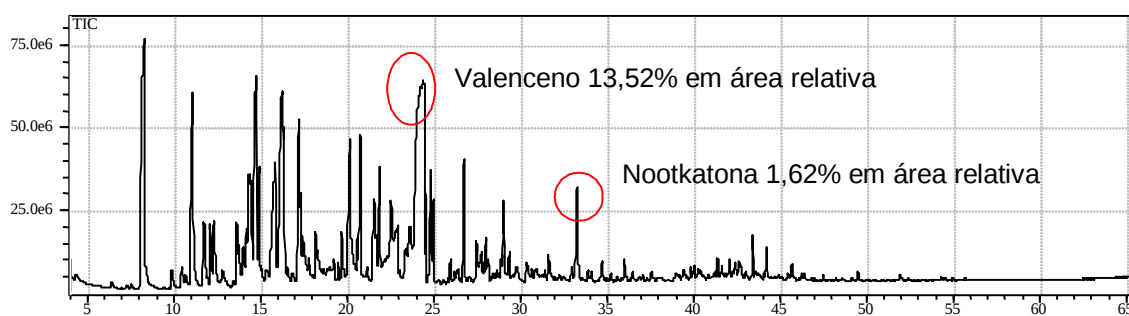


Figura B.3 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 3; oxidante (peróxido de hidrogênio) = 2,31 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.

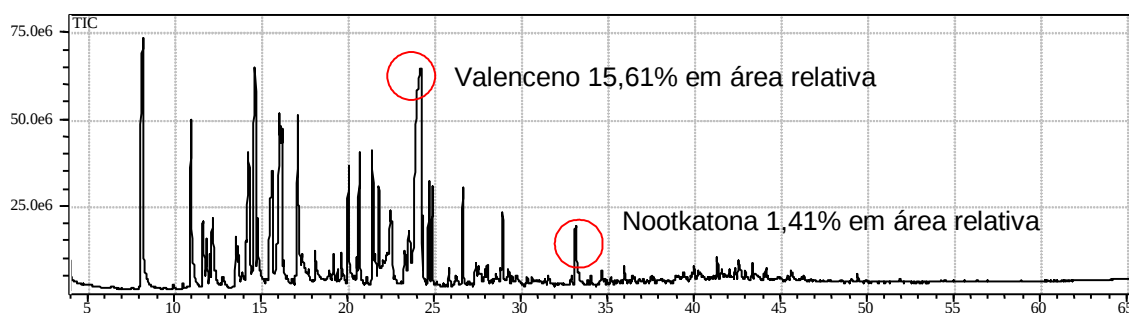


Figura B.4 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 4: catalisador de ferro = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹; temperatura = 70°C.

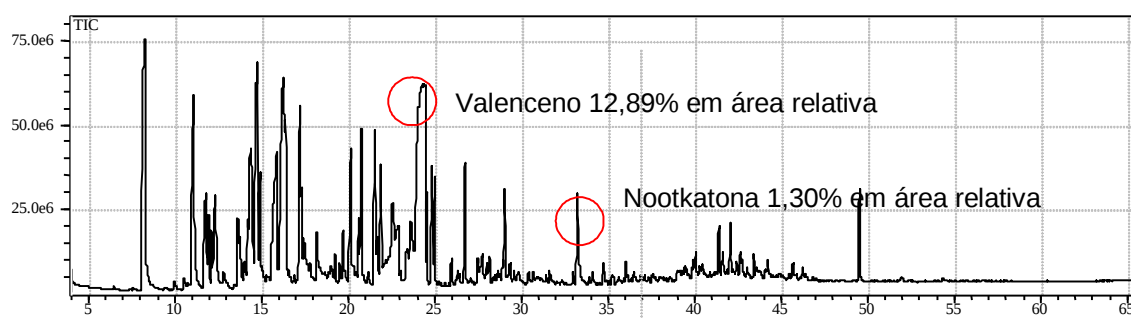


Figura B.5 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 5: catalisador de cobre = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C .

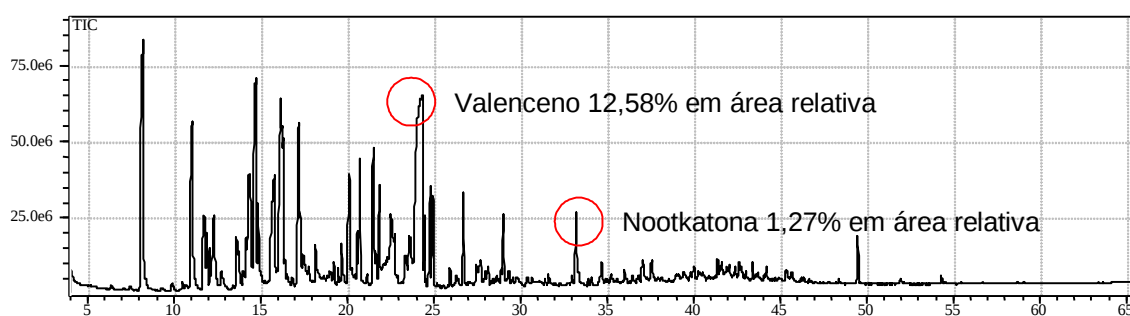


Figura B.6 - Cromatograma da reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 6: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C .

APÊNDICE C – PLANEJAMENTO PARA CINÉTICA DA REAÇÃO

Tabela C.1 - Matriz experimental para a cinética da reação com $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador ferro (Fe).

Experimento	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Catalisador (molar)	Razão (Oxid/Subst)
8.1	4	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.2	8	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.3	12	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.4	16	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.5	20	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.6	24	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)

Tabela C.2 - Matriz experimental para a cinética da reação com $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador ferro (Fe).

Experimento	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Catalisador (molar)	Razão (Oxid/Subst)
8.7	4	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.8	8	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.9	12	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.10	16	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.11	20	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.12	24	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)

Tabela C.3 - Matriz experimental para a cinética da reação com $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador cobalto (Co).

Experimento	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Catalisador (molar)	Razão (Oxid/Subst)
8.1	4	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.2	8	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.3	12	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.4	16	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.5	20	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.6	24	70	$1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)

Tabela C.4 - Matriz experimental para a cinética da reação com $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de catalisador cobalto (Co).

Experimento	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Catalisador (molar)	Razão (Oxid/Subst)
8.7	4	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.8	8	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.9	12	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.10	16	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.11	20	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)
8.12	24	70	$3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	6:1 ($4,62 \text{ mol.L}^{-1}$)

APÊNDICE D – TABELAS DA CINÉTICA DA REAÇÃO

Tabela D.1 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja, catalisada por $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$.

<i>Experimento</i>	<i>Tempo (h)</i>	<i>Valenceno (%)</i>	<i>Nootkatona (%)</i>
8.1	4	17,62	3,00
8.2	8	17,95	3,22
8.3	12	10,60	3,27
8.4	16	6,72	7,21
8.5	20	7,23	5,33
8.6	24	9,56	3,81

Tabela D.2 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja, catalisada por $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{BMPP})\text{Cl}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3]$.

<i>Experimento</i>	<i>Tempo (h)</i>	<i>Valenceno (%)</i>	<i>Nootkatona (%)</i>
8.7	4	13,50	4,74
8.8	8	13,31	3,82
8.9	12	9,50	3,90
8.10	16	7,88	4,33
8.11	20	9,35	4,00
8.12	24	12,07	3,80

Tabela D.3 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja, catalisada por $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$

<i>Experimento</i>	<i>Tempo (h)</i>	<i>Valenceno (%)</i>	<i>Nootkatona (%)</i>
8.1	4	12,22	2,90
8.2	8	11,04	4,67
8.3	12	7,39	4,89
8.4	16	9,41	5,37
8.5	20	11,39	5,08
8.6	24	7,57	6,70

Tabela D.4 - Estudo cinético da oxidação do valenceno presente na fase oleosa de laranja, catalisada por $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{BMPP})]\text{Cl}_2$.

<i>Experimento</i>	<i>Tempo (h)</i>	<i>Valenceno (%)</i>	<i>Nootkatona (%)</i>
8.7	4	11,03	3,78
8.8	8	9,95	4,68
8.9	12	7,76	5,66
8.10	16	5,72	7,42
8.11	20	5,21	6,51
8.12	24	6,61	6,46

APÊNDICE E – CROMATOGRAMAS DA CINÉTICA DA REAÇÃO

A seguir serão apresentados diversos cromatogramas mostrando resultados referentes ao comportamento dos compostos valenceno e nootkatona frente as reações cinéticas utilizadas em diferentes condições experimentais.

Cromatogramas da cinética de reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja com o catalisador de cobalto.

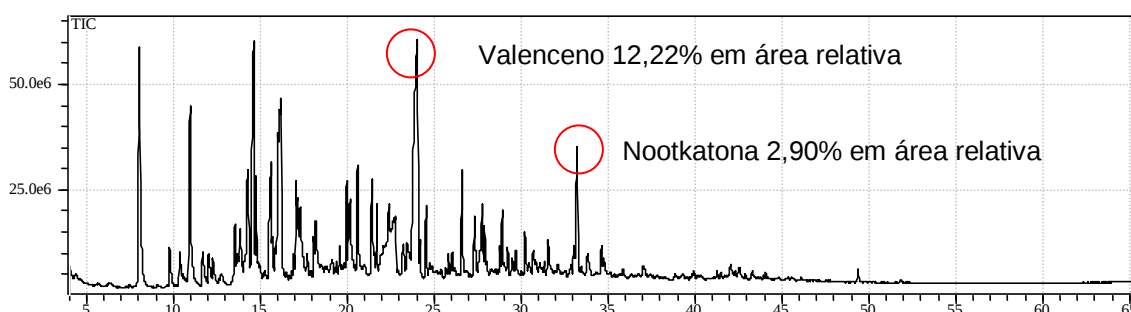


Figura E.1 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.1: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 4 horas.

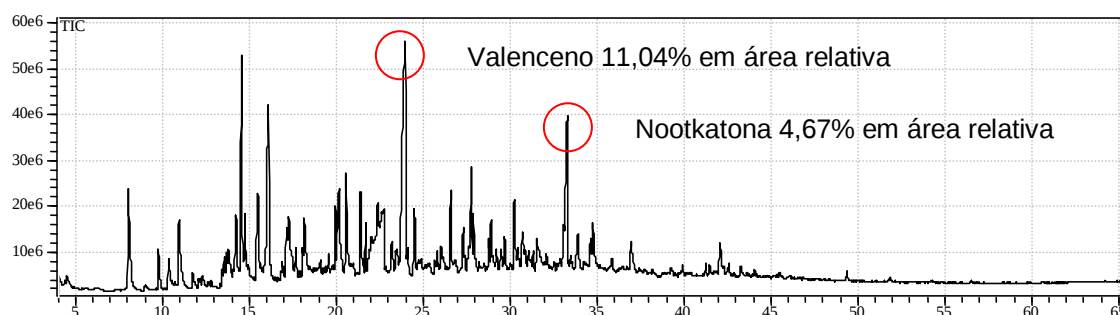


Figura E.2 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.2: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 8 horas.

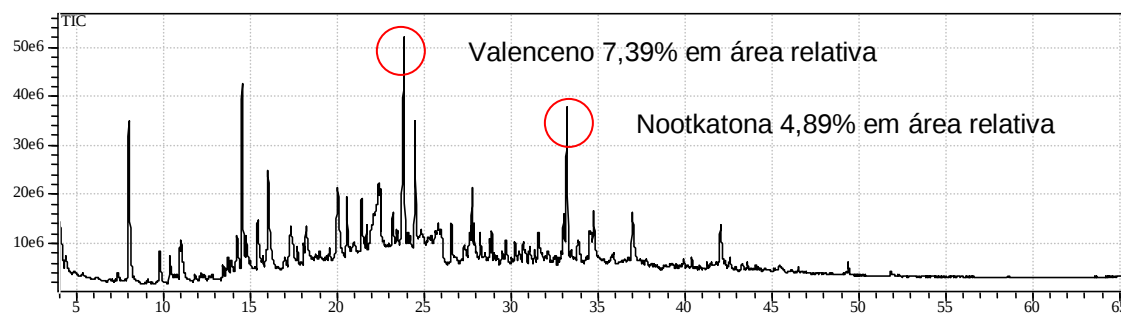


Figura E.3 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.3: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 12 horas.

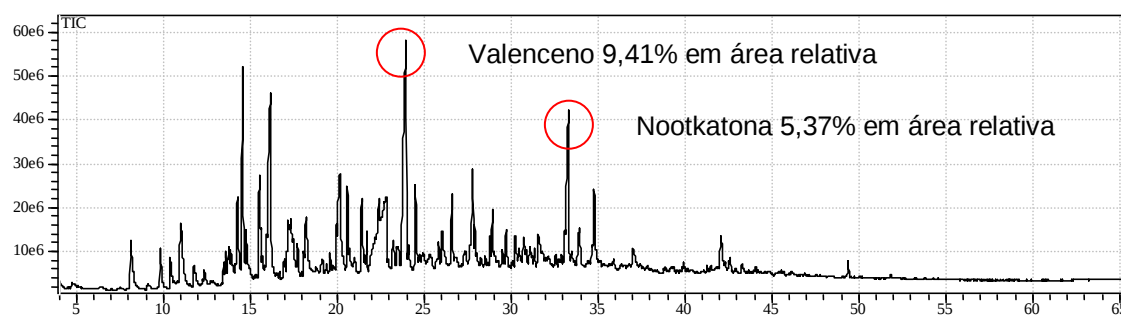


Figura E.4 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.4: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 16 horas.

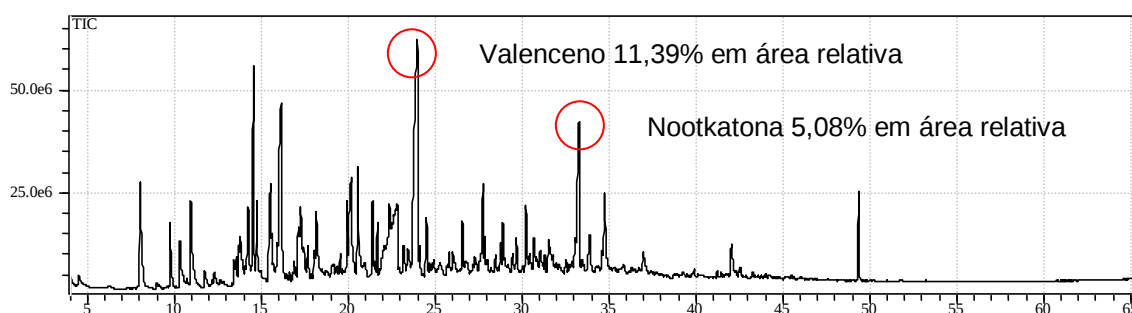


Figura E.5 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.5: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 20 horas.

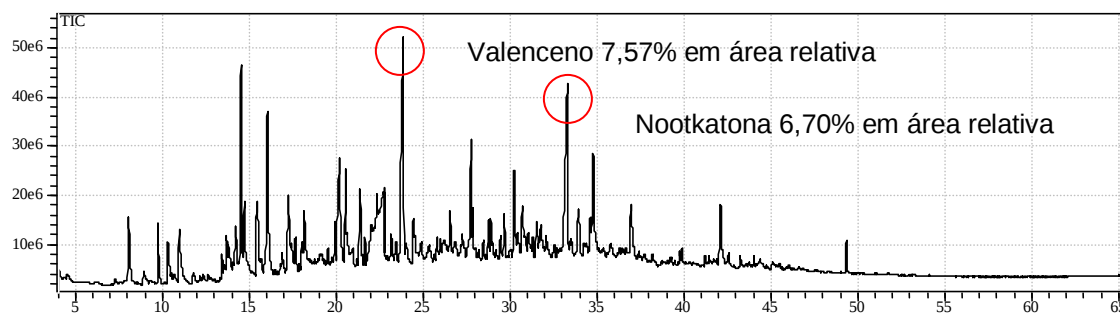


Figura E.6 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.6: catalisador de cobalto = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 24 horas.

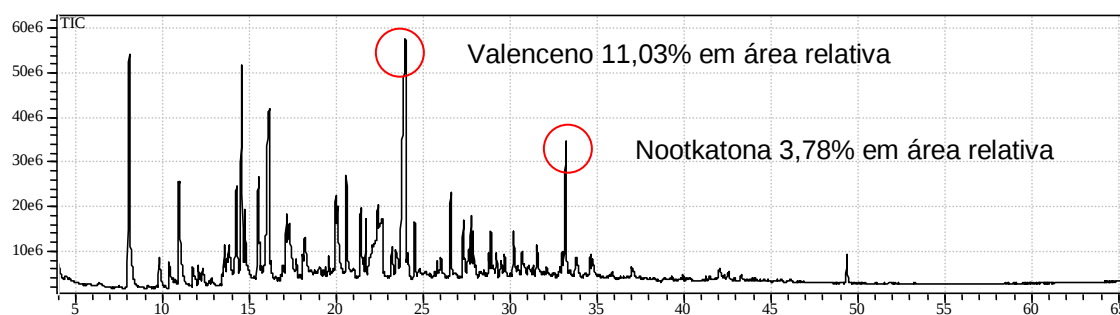


Figura E.7 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.7: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 4 horas.

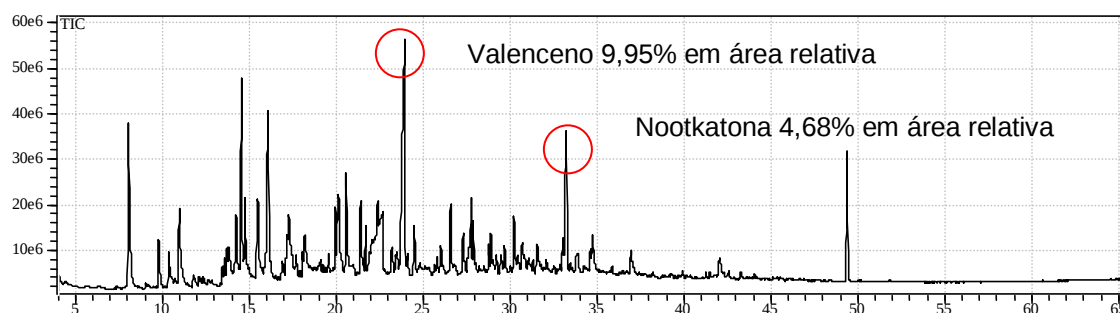


Figura E.8 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.8: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 8 horas.

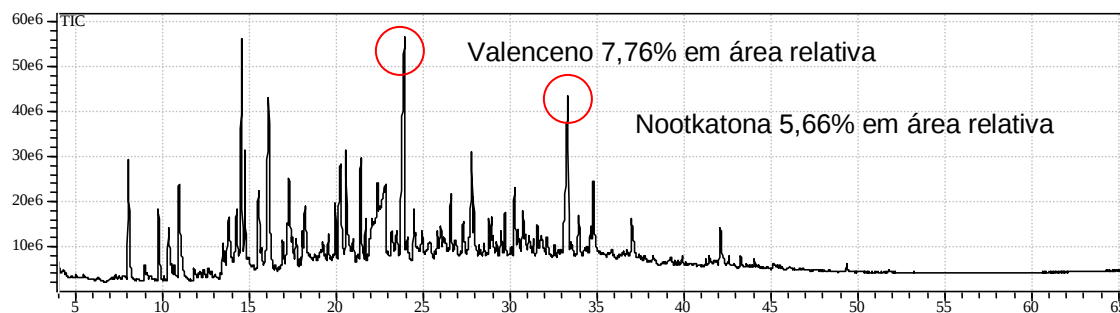


Figura E.9 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.9: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 12 horas.

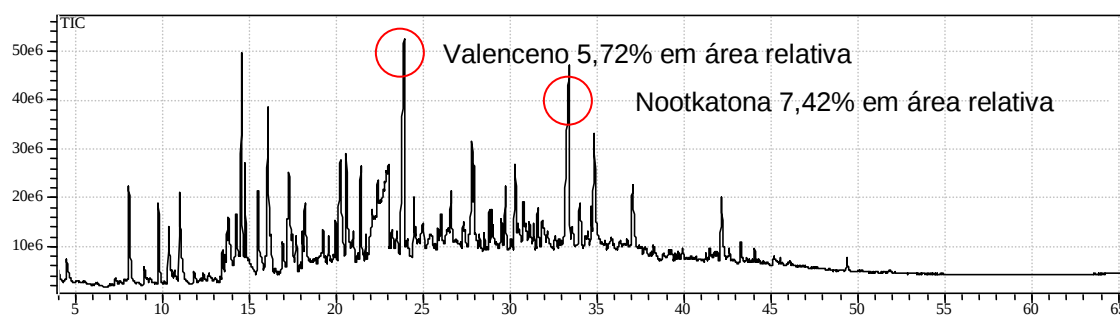


Figura E.10 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.10: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 16 horas.

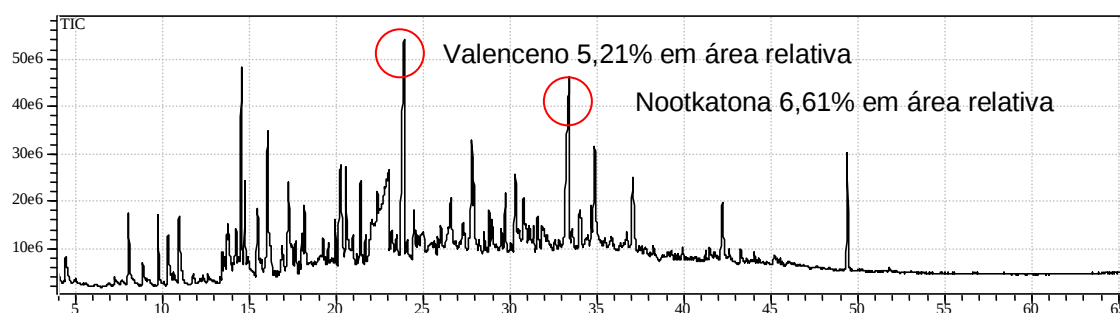


Figura E.11 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 20 horas.

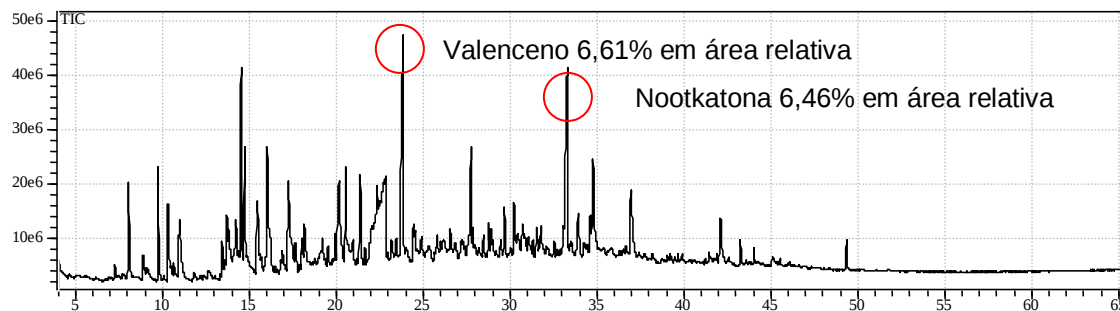


Figura E.12 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de cobalto = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 20 horas.

Cromatogramas da cinética de reação de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja com o catalisador de ferro.

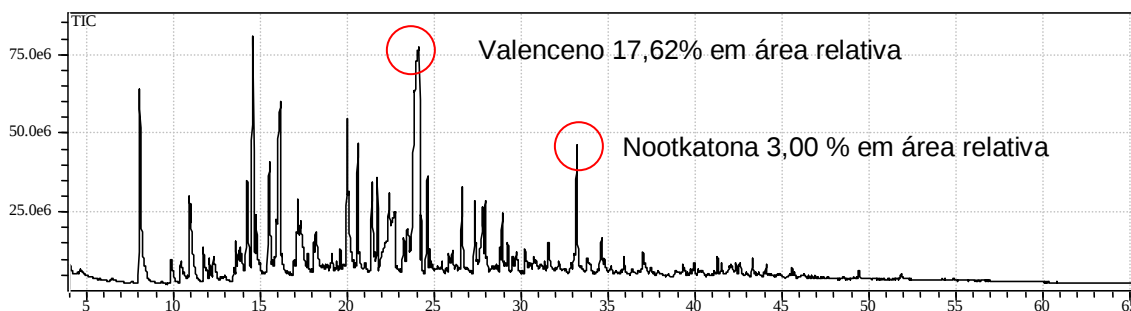


Figura E.13 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.1: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo= 4 horas.

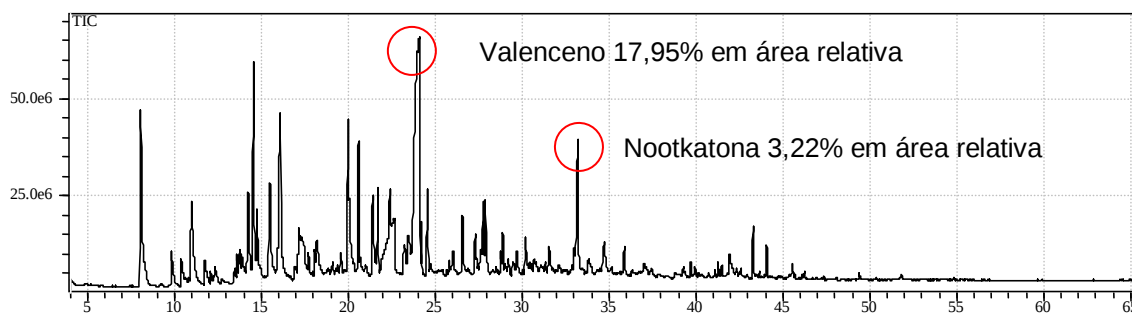


Figura E.14 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.2: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 8 horas.

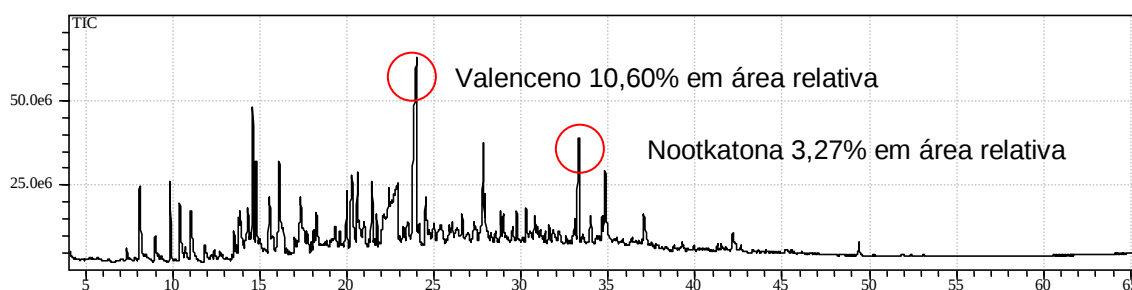


Figura E.15 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.3: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 12 horas.

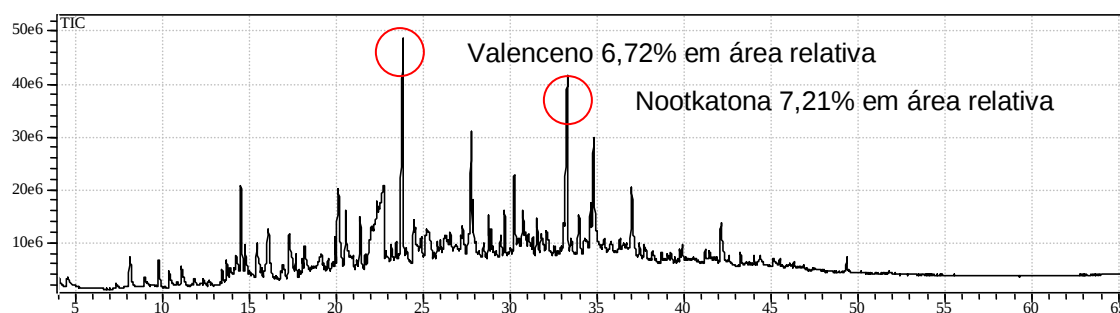


Figura E.16 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.4: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 16 horas.

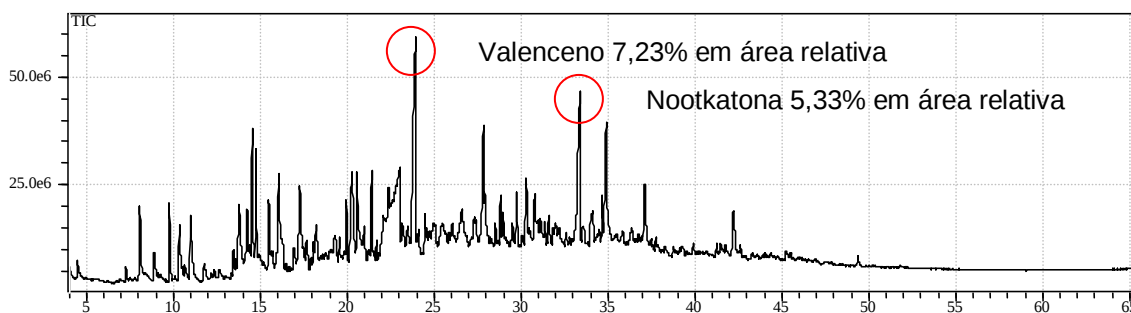


Figura E.17 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.5: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 20 horas.

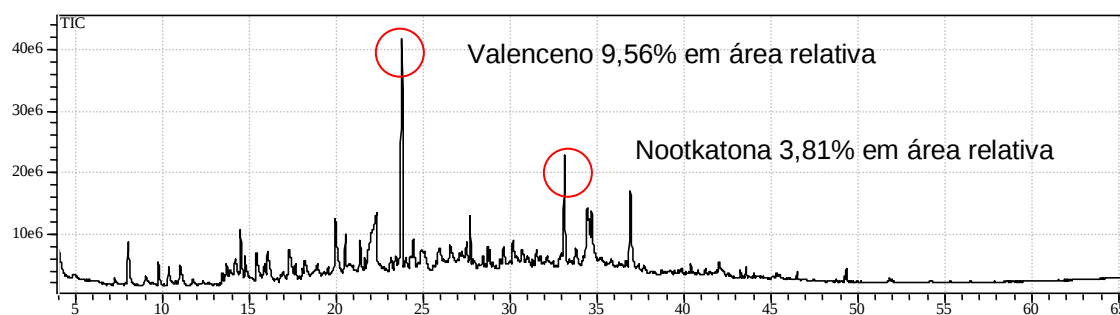


Figura E.18 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.6: catalisador de ferro = $1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 24 horas.

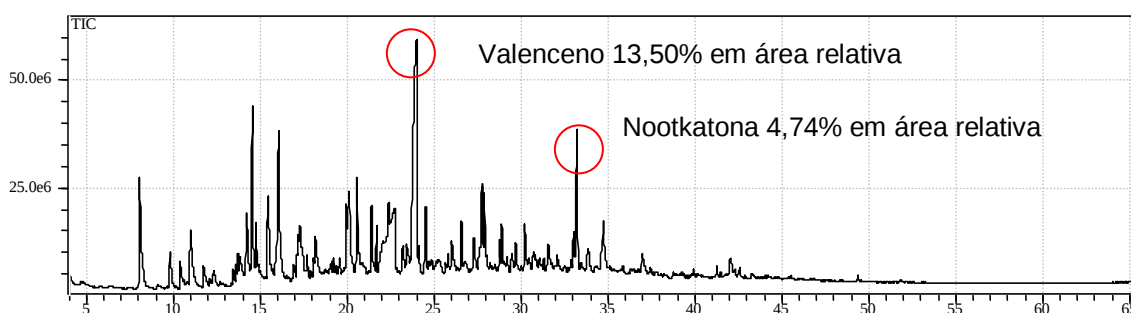


Figura E.19 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.7: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 4 horas.

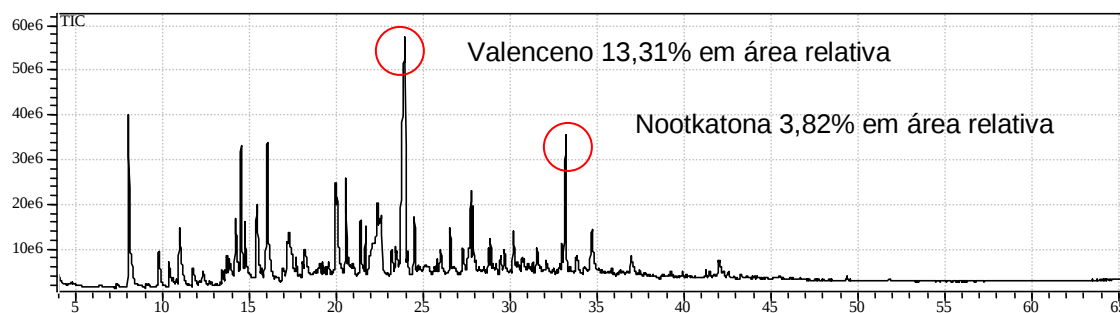


Figura E.20 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.8: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 8 horas.

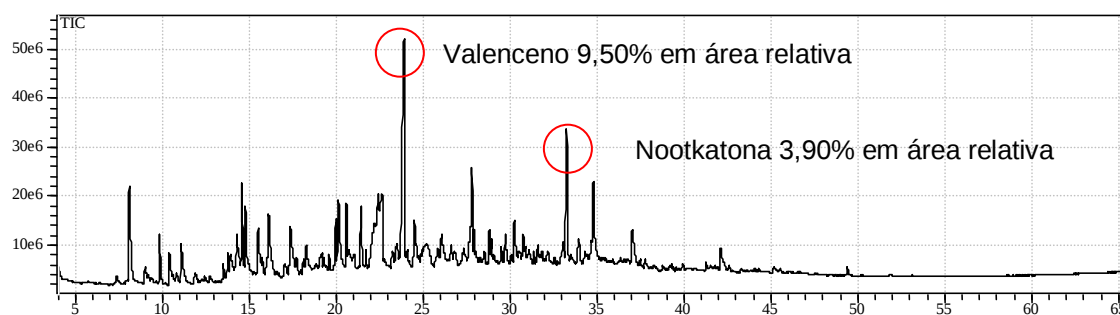


Figura E.21 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.9: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 12 horas.

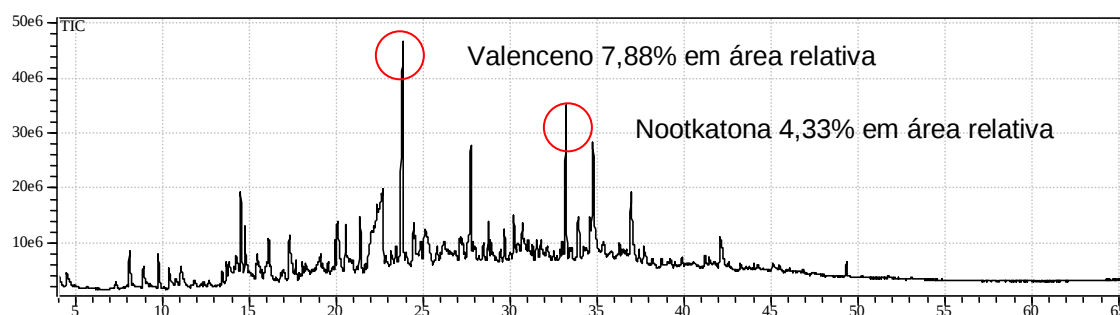


Figura E.22 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.10: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; oxidante = 4,62 mol.L⁻¹; temperatura = 70°C; tempo= 16 horas.

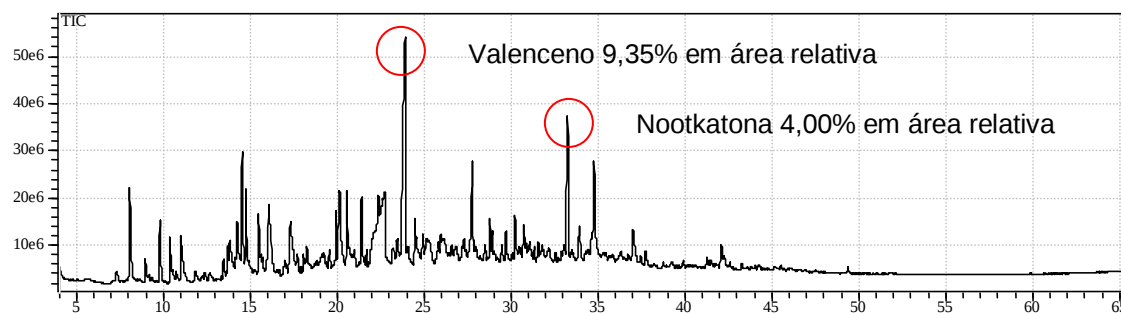


Figura E.23 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.11: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo = 20 horas.

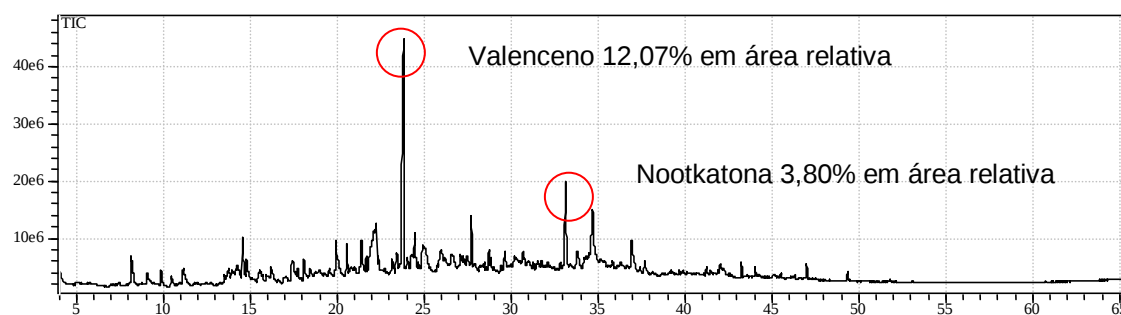


Figura E.24 - Cromatograma da reação cinética de oxidação do valenceno presente na fase oleosa concentrada de laranja. Condição experimental 8.12: catalisador de ferro = $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; oxidante = $4,62 \text{ mol.L}^{-1}$; temperatura = 70°C ; tempo = 24 horas.