



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

Obtenção de Extrato de Matriz Oleaginosa de Origem Amazônica via Tecnologia Supercrítica

**Determinação das Isotermas de Rendimento Global, dos
Parâmetros de Processo e Caracterização Química dos Extratos**

Rodrigo Nunes Cavalcanti
Engenheiro de Alimentos

Orientadora: **Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**

Campinas, 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C314o	<p>Cavalcanti, Rodrigo Nunes</p> <p>Obtenção de extrato de matriz oleaginosa de origem amazônica via tecnologia supercrítica: determinação das isotermas de rendimento global dos parâmetros de processo e caracterização química dos extratos / Rodrigo Nunes Cavalcanti. -- Campinas, SP: [s.n], 2009.</p> <p>Orientador: Maria Angela de Almeida Meireles Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos</p> <p>1. Extração com fluido supercrítico. 2. Plantas oleaginosas. 3. Atividade antioxidante. I. Meireles, Maria Angela de Almeida. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.</p>
-------	---

Título em inglês: Obtaining of extract from amazon oil matrix via supercritical technology: determination of the global yield isotherms, kinetic parameters and chemical characterization of the extracts

Palavras-chave em inglês (Keywords): Supercritical fluid extraction, Oilseed plants, Antioxidant activity

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Maria Angela de Almeida Meireles

Eduardo Augusto Caldas Batista

Raquel Simões Ângelo

Data de defesa: 30/03/2009

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

Banca Examinadora

Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles
DEA-FEA/UNICAMP
Orientadora

Prof. Dr. Eduardo Augusto Caldas Batista
DEA-FEA/UNICAMP
Membro Titular

Dra. Raquel Simões Angelo
Croda do Brasil Ltda.
Membro Titular

Prof. Dr. Fernando Antônio Cabral
DEA-FEA/UNICAMP
Suplente

Prof. Dr. Paulo de Tarso Vieira e Rosa
IQ/UNICAMP
Suplente

Campinas, 2009

DEDICO

*A Deus, pelas lições de vida,
crescimento, força, fé, sucesso e
esperança*

*A minha mãe, Maria Dilenia, pelo amor
incondicional e por doar-se de corpo e
alma aos filhos, buscando sempre o
melhor para nós.*

*Aos meus irmãos Ricardo e Eduardo,
pelo amor que nos une.*

*A minha tia, Maria Dione, por todo
amor, fé e esperança depositados em
mim.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente na minha vida, guardando, guiando e iluminando a mim e toda minha família.

A minha família por todo apoio, conforto, amor, carinho e compreensão que tanto me foram importantes nos momentos difíceis, e também nos felizes.

À minha orientadora, Maria Angela de Almeida Meireles, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos técnico-científicos, pelo apoio e pelos aconselhamentos muito prudentes e úteis.

À Croda do Brasil Ltda. na pessoa de Raquel Simões Ângelo, pela concessão da matéria-prima utilizada neste trabalho e pelas conversas enriquecedoras durante as reuniões.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), por ter permitido a realização deste trabalho.

A CAPES pelo financiamento deste trabalho através da concessão da bolsa de estudos.

A todos que compõem o Grupo LASEFI, pelos treinamentos, discussões e apoio. Em especial, ao Ari e a Taísa, pela ajuda, paciência e amizade.

Aos colegas pós-graduandos pela ajuda e momentos de descontração, em especial para: Juliano Fiori, Marcio Mazutti, Andrea Limoeiro, Hugo, Margarita, Bebel, Ricardo, Lorena, Ivor, Priscilla, Flávio, Julio, Gui e Glaucia.

Aos amigos, Patrícia Cecília (Pati), Glaucia Vieira (Gal), Julice (Ju), Carol (Cacau) e Helmut por toda ajuda, apoio, paciência e amizade que tanto me foram úteis na realização deste trabalho e nos momentos de dificuldade.

“Jamais se desespere em meio as mais sombrias aflições da vida, pois das nuvens mais negras cai água límpida e fecunda.”

(Provérbio chinês)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AUTOR: Rodrigo Nunes Cavalcanti.

TÍTULO: Obtenção de Extrato de Matriz Oleaginosa de Origem Amazônica via Tecnologia Supercrítica: determinação das isotermas de rendimento global, parâmetros cinéticos e caracterização química dos extratos.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles.

Departamento de Engenharia de Alimentos - DEA, FEA, Unicamp, fevereiro de 2007.

RESUMO

O Brasil constitui um grande produtor de plantas e frutas tropicais, cujo emprego pelas indústrias farmacêutica, alimentícia e de cosméticos vem aumentando a cada ano. Com a finalidade de aproveitar efetivamente o seu potencial, o país necessita desenvolver e/ou adaptar tecnologias que sejam economicamente viáveis e ecologicamente corretas como, por exemplo, os processos de extração com solventes GRAS (*Generally Recognized as Safe*). Dentro desse âmbito, o processo de extração supercrítica caracteriza-se pela obtenção de produtos de elevada qualidade com a minimização dos resíduos de solventes e da alteração das propriedades do extrato em comparação aos processos de extração convencionais. Apesar dessa tecnologia já estar sendo estudada há muitos anos no Brasil e da vasta disponibilidade de matéria-prima de alta qualidade e baixo custo no país, ainda não existe na América Latina nenhuma planta industrial. A produção de oleaginosas tem mostrado um notável aumento nas últimas décadas. Esta evolução deve-se ao crescente consumo de gorduras comestíveis, como óleos vegetais e seus produtos, devido à substituição gradual da gordura animal pela de origem vegetal. A mudança está relacionada com a noção de estilo de vida saudável e a necessidade de comer alimentos com uma influência positiva na saúde, aumentando o uso de alimentos

ricos em compostos com comprovado benefício. Sendo assim, estudos visando o conhecimento sobre as possibilidades de comercialização de matrizes oleaginosas são necessários para proporcionar o beneficiamento social, econômico e ambiental através da valorização e/ou do aproveitamento de seus produtos e subprodutos, o que implica em uma maior competitividade, e conseqüente, expansão comercial, uma vez que se observa uma tendência generalizada do mercado em relação à busca por produtos que não agridam o meio ambiente, gerem vantagens econômicas e possibilitem o desenvolvimento social. Este trabalho pretende avaliar o processo de extração supercrítica de matriz vegetal oleaginosa de origem Amazônica, através da determinação e caracterização dos parâmetros de processo e composição química dos extratos obtidos. Este estudo divide-se em três etapas. Na etapa de caracterização química e física foram determinados a composição, o tamanho e a densidade das partículas da matriz vegetal oleaginosa. Na etapa de extração, foi realizada a determinação dos parâmetros de processo, bem como a caracterização dos extratos com relação ao teor de tocoferóis, tocotrienóis, composição em ácidos graxos, fenóis, flavonóides e atividade antioxidante. Na última etapa, foi realizada a análise de viabilidade econômica, visando a determinação da condição de extração que possibilite a melhor relação custo-benefício. A otimização das condições de separação da mistura de extrato e solvente constitui uma etapa importante do processo de extração de produtos naturais utilizando fluidos supercríticos, uma vez que permitirá uma melhor recuperação e/ou fracionamento do extrato.

Palavras-chave: Extração com fluido supercrítico. Plantas oleaginosas. Atividade antioxidante.

MASTER THESIS

AUTHOR: Rodrigo Nunes Cavalcanti

TITLE: Obtaining of Extract from Amazon Oil Matrix via Supercritical Technology: determination of the global yield isotherms, kinetic parameters and chemical characterization of the extracts.

SUPERVISOR: Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles

Food Engineering Department - DEA, FEA, Unicamp, February 2009

ABSTRACT

Brazil is a great producing of plants and tropical fruits whose utilization by the pharmaceutical, nutrition and cosmetics industries has been increasing every year. With the purpose of taking advantage his/her potential indeed it is necessary to develop and/or to adapt technologies economically viable and ecologically correct as, for instance, the extraction processes with GRAS solvents (Generally Recognized as Safe). Inside of that extent the process of supercritical fluid extraction is characterized by the obtaining of products with high quality, the minimization of the residues of solvents and of the alteration of the properties of the extract in comparison with the conventional extraction processes. In spite of that technology has been studied many decades in Brazil and of the vast readiness of raw material of high quality and low cost in the country, it still doesn't exist in Latin America any industrial plant. Besides that, the production of oleaginous has been showing a notable increase in the last decades. This evolution is due to the crescent consumption of eatable fats, as vegetable oils and their products, due to the gradual substitution of the animal fat for the of vegetable origin. The change is related with the notion of healthy lifestyle and the need of eating foods with a positive influence in health, increasing the use of foods rich in elements with proven health benefit. Therefore, studies

seeking the knowledge about the possibilities of commercialization of oil matrices are necessary to provide the improvement social, economical and environmental through the valorization and/or of the use of their products and sub-products what implicates in a larger competitiveness, and consequently, commercial expansion, once a widespread tendency of the market is observed in relation to the search by products that don't attack the environment, generate economical advantages and make possible the social development. This work intends to evaluate the process of supercritical fluid extraction of oil matrices from Amazonian origin, through the determination and characterization of the process parameters and chemical composition of the obtained extracts. This study becomes separated in three stages. In the stage of chemical and physical characterization it was obtained the chemical composition, size and density of the particles of the oil matrices. In the extraction stage the determination of the process parameters was accomplished, as well as the characterization of the extracts regarding the composition of: tocopherols, tocotrienols, fatty acids, phenols, flavonoids and antioxidant activity. In the last stage the analysis of economical viability was accomplished seeking the determination of the extraction condition to make possible the best relationship cost-benefit. The optimization of the conditions of separation of the extract mixture and solvent constitutes an important stage of the process of extraction of natural products using supercritical fluids, once it allow a better recovery and/or separation of the extract.

Keywords: Supercritical fluid extraction. Oilseed plants. Antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1 – Fruto do cupuaçuzeiro (<i>Theobroma grandiflorum</i>).	37
Figura 3.2 – Fruto cupuaçu aberto e fechado.	41
Figura 3.3 - Diagrama de fases para a água e o dióxido de carbono [adaptado de KASUYA, 2007].	54
Figura 3.4 - Diagrama de fase para um composto puro [adaptado de VASCONCELLOS, 2007].	54
Figura 3.5 - Esquema gráfico das principais etapas do processo de extração sólido-líquido de matrizes vegetais [adaptado de TZIA & LIADAKIS, 2003].	58
Figura 3.6 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico (SFE) [QUISPE-CONDORI, 2005].	60
Figura 3.7 - Forma tipo I de curvas globais de extração (OEC) [adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994].	61
Figura 3.8 - Forma tipo II de curvas globais de extração (OEC) [adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994].	61
Figura 3.9 - Curva de extração do cravo-da-Índia [adaptado de RODRIGUES et al., 2002].	62
Figura 4.1 - Estufa à vácuo utilizada para a determinação da umidade.	71
Figura 4.2 - Mufla utilizada para a determinação do teor de cinzas.	71
Figura 4.3 - Aparelho de Soxhlet utilizado na determinação do teor de lipídeos.	72
Figura 4.4 - Spe-ed SFE: (1). Banho de resfriamento; (2). Bomba pneumática; (3). Unidade controladora de temperatura; (4). Totalímetro; (5). Rotâmetro; (6). Cilindro de CO ₂	73
Figura 4.5 - Célula de extração de 290mL (Thar Designs, CL 1373, Pittsburg, EUA).....	73
Figura 4.6 - Fluxograma da unidade experimental Spe-ed SFE [adaptado de VASCOCELLOS, 2007].	74
Figura 4.7 - Empacotamento do leito da célula de 290 mL [VASCONCELLOS, 2007].	77

Figura 4.8 - Curva de decaimento da densidade óptica em sistema de co-oxidação – caroteno/ácido linoléico. A relação entre as tangentes representa os fatores cinéticos F1 e F2, nos quais, (a) e (A) são os catetos opostos, obtidos pela diferença das leituras das absorvâncias da amostra e do branco, respectivamente; (b) e (B) são os catetos adjacentes, obtidos pela diferença entre os tempos da amostra e do branco, respectivamente [adaptado de JARDINI & MANCINI-FILHO, 2007].	87
Figura 5.1 - Distribuição granulométrica das partículas moídas da torta desengordurada de cupuaçu.	91
Figura 5.2 - Isotermas de rendimento global para o sistema TCPU-CO ₂ em função da pressão.	94
Figura 5.3 - Isotermas de rendimento global para o sistema TCPU-CO ₂ em função da densidade do dióxido de carbono para as respectivas pressões de 200, 250, 300, 350 e 400 bar em ordem crescente.	95
Figura 5.4 - Curva global de extração obtida pela cinética à 300 bar e 50°C em função do tempo.	97
Figura 5.5 - Curva global de extração obtida pela cinética à 350 bar e 50°C em função do tempo.	98
Figura 5.6 - Curva global de extração obtida pela cinética à 300 bar e 50°C em função da razão entre solvente alimentação (S/F) sob ajuste linear de três retas.	98
Figura 5.7 - Curva global de extração obtida pela cinética à 350 bar e 50°C em função da razão entre solvente alimentação (S/F) sob ajuste linear de três retas.	99
Figura 5.8 - Compostos fenólicos no visível com tratamento químico (AS): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.	100
Figura 5.9 - Compostos fenólicos em UV-366 nm com tratamento químico (AS): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.	101

Figura 5.10 - Flavonóides em UV-366 nm com tratamento químico (NP/PG): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.	102
Figura 5.11 - Concentração de compostos fenólicos em GAE.	103
Figura 5.12 - Concentração de flavonóides em equivalentes de rutina (mg/100g amostra).	104
Figura 5.13 - Análise do rendimento de γ -tocoferol frente aos dados das isotermas de rendimento global.	107
Figura 5.14 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 200 e 250 bar a 50°C e suas duplicatas I e II.	111
Figura 5.15 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 300 e 350 bar a 50°C e suas duplicatas I e II.	111
Figura 5.16 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 400 bar a 50°C e 200 bar a 70°C e suas duplicatas.	112
Figura 5.17 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 250 e 300 bar a 70°C e suas duplicatas I e II.	112
Figura 5.18 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 350 e 400 bar a 70°C e suas duplicatas I e II.	113
Figura 5.19 - Influência do tempo de extração no custo específico do extrato obtido da torta desengordurada de cupuaçu através do ensaio cinético a 300 bar e 50°C.	116
Figura 5.20 - Influência do tempo de extração no custo específico do extrato obtido da torta desengordurada de cupuaçu através do ensaio cinético a 350 bar e 50°C.	116
Figura 8.1 - Curva de calibração do ácido gálico (mg/mL).	132
Figura 8.2 - Curva de calibração em equivalentes de rutina (mg/mL).	133
Figura 8.3 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 200 bar e 50°C.	136
Figura 8.4 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 250 bar e 50°C.	136

Figura 8.5 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 300 bar e 50°C.....	137
Figura 8.6 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 350 bar e 50°C.....	137
Figura 8.7 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 400 bar e 50°C.....	138
Figura 8.8 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 200 bar e 70°C.....	138
Figura 8.9 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 250 bar e 70°C.....	139
Figura 8.10 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 300 bar e 70°C.....	139
Figura 8.11 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 350 bar e 70°C.....	140
Figura 8.12 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 400 bar e 70°C.....	140
Figura 8.13 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 200 bar e 50°C.....	141
Figura 8.14 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 250 bar e 50°C.....	141
Figura 8.15 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 300 bar e 50°C.....	142
Figura 8.16 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 350 bar e 50°C.....	142
Figura 8.17 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 400 bar e 50°C.....	143
Figura 8.18 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 200 bar e 70°C.....	143
Figura 8.19 - Cromatograma realizado para a condição de extração de 250 bar e 70°C....	144
Figura 8.20 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 300 bar e 70°C.....	144
Figura 8.21 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 350 bar e 70°C.....	145
Figura 8.22 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 400 bar e 70°C.....	145

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Valor nutricional de 100g de polpa de cupuaçu	42
Tabela 3.2 - Composição centesimal das sementes de cupuaçu e cacau em base úmida [adaptado de AZEVEDO, 2001].	42
Tabela 3.3 - Percentual de ácidos graxos contidos nas gorduras das sementes de cupuaçu e cacau [adaptado de AZEVEDO, 2001].	43
Tabela 3.4 - Caracterização da qualidade da gordura das sementes de cupuaçu e cacau [VASCONCELOS et al., 1975].	45
Tabela 3.5 - Valores característicos de acordo com o estado de agregação [BRUNNER, 1994].	55
Tabela 4.1 Parâmetros operacionais adotados para a determinação das isotermas de rendimento global (<i>Global Yield Isotherms</i> - GYI).	78
Tabela 5.1 - Composição centesimal da torta desengordurada de cupuaçu (<i>Theobroma grandiflorum</i>) em base integral em g/100g de amostra.	92
Tabela 5.2 - Dados de condições experimentais para estudo cinético a 300 e 350 bar a 50°C.	97
Tabela 5.3 - Parâmetros cinéticos da etapa CER obtidos através do ajuste ao <i>spline</i> com três retas aos pontos experimentais obtidos da cinética de extração da amostra TCPU.....	99
Tabela 5.4 - Tocóis totais detectados nas cinco condições de pressão dos extratos supercríticos de TCPU obtidos a 50°C (mg/100g de ex trato).....	105
Tabela 5.5 - Tocóis totais detectados nas cinco condições de pressão dos extratos supercríticos de TCPU obtidos a 70°C (mg/100g de ex trato).....	106
Tabela 5.6 - Composição de ácidos graxos dos extratos supercríticos da torta de cupuaçu a temperatura de 50°C.....	108

Tabela 5.7 - Composição de ácidos graxos dos extratos supercríticos da torta de cupuaçu a temperatura de 70°C.....	109
Tabela 5.8 - Atividade antioxidante e fatores cinéticos caracterizando a inibição da oxidação no padrão BHT e nos extratos supercríticos a diferentes condições de extração.	114
Tabela 8.1 - Dados do rendimento global obtido para a isoterma de 50°C.....	129
Tabela 8.2 - Dados do rendimento global obtido para a isoterma de 70°C.....	129
Tabela 8.3 - Dados do ensaio cinético a 300 bar e 50°C.....	130
Tabela 8.4- Dados do ensaio cinético a 350 bar e 50°C.....	131
Tabela 8.5 - Dados do padrão BHT e do controle em triplicata para a análise de atividade antioxidante.....	134
Tabela 8.6 - Dados da atividade antioxidante das amostras para cada uma das cinco pressões (em duplicata) na temperatura de 50°C.....	134
Tabela 8.7 - Dados da atividade antioxidante das amostras para cada uma das cinco pressões (em duplicata) na temperatura de 70°C.....	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AS - Anisaldeído Sulfúrico

BB ou B – Bomba

BG - Banho de Gelo

BHT - Butilhidroxitolueno

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

CE - Célula de extração

CER - *Constant Extraction Rate*

COL – *Cost Operation Labor*

COM – *Cost of Manufacturing*

CP - Compressor

CRW – *Cost of Raw Material*

CUT – *Cost of Utilities*

CWT – *Cost of Waste Treatment*

DC - *Diffusion Controlled*

E – Extrator

F - Forno da unidade *Spe-ed* SFE

FC - Frasco coletor

FCI – *Fraction Cost of Investment*

FER - *Falling Extraction Rate*

GAE - *Galic Acid Equivalent*

GRAS - Generally Recognized as Safe

GYI - *Global Yield Isotherms*

HD – *Hydrodistillation*

IRG – Isotermas de Rendimento Global

LPSE - *Low Pressure Solvent Extraction*

NP/PG - *Natural Products Polyethylene Glycol.*

OEC - *Overall Extraction Curves*

PC – Ponto Crítico

RT - Rotâmetro

S – Separador

SF - *Supercritical Fluid*

SFE - Supercritical Fluid Extraction

TCPU – Torta Desengordurada de Cupuaçu

TT - Totalímetro

V1, V2, V3 e V4 - Válvulas de retenção

V5 - Válvula micrométrica de expansão

VBA - Visual Basic para Aplicação

VET – Valor Energético Total

LISTA DE SÍMBOLOS

ac – Acumulado

CO₂ - Dióxido de carbono

Ext – Extrato

F – Frasco

F - Massa de alimentação

^L - Líquido

M_{amostra} - Massa da amostra

M_{CER} - Taxa de transferência de massa

M_{extrato} - Massa de extrato

P - Pressão

P_c - Pressão crítica

P_r – Pressão reduzida

R² – Fator de correlação

R_{CER} - Rendimento do período de taxa constante de extração

Rend. - Rendimento

S - Massa de CO₂

SC- CO₂ - Dióxido de carbono supercrítico

T - Temperatura

t – Tempo

T_c - Temperatura crítica

t_{CER} - Duração do período de taxa constante de extração

t_{FER} – Duração do período de taxa decrescente de extração

T_r – Temperatura reduzida

X_0 - Rendimento global

Y_{CER} - Razão mássica de soluto na saída do leito

ρ_a - Densidade aparente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
2	OBJETIVOS	33
2.1	OBJETIVO GERAL	33
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
3.1	MATRIZ OLEAGINOSA.....	35
3.2	CUPUAÇU (THEOBROMA GRANDIFLORUM).....	36
3.2.1	<i>Aspectos Gerais</i>	36
3.2.2	<i>Origem e Distribuição</i>	38
3.2.3	<i>Descrição e Características Botânicas</i>	38
3.2.4	<i>Importância Econômica e Social</i>	40
3.2.5	<i>Aplicação, Composição Química e Valor Nutricional</i>	41
3.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	45
3.3.1	<i>Método de co-oxidação do β-caroteno/ácido linoléico</i>	47
3.4	MÉTODOS CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO	48
3.4.1	<i>Métodos Convencionais de Extração de Óleos e Gorduras</i>	49
3.5	FLUIDO SUPERCRÍTICO (SF).....	53
3.6	EXTRAÇÃO COM FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SFE)	57
3.6.1	<i>Extração Supercrítica de Óleos e Gorduras</i>	63
3.7	ANÁLISE DE CUSTOS.....	65
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	69

4.1	MATERIAL	69
4.1.1	<i>Matéria-Prima</i>	69
4.2	MÉTODOS	69
4.2.1	<i>Preparo e Caracterização da Matéria-Prima</i>	69
4.2.2	<i>Extração com Dióxido de Carbono Supercrítico</i>	72
4.2.3	<i>Determinação do Rendimento Global (X_0)</i>	78
4.2.4	<i>Parâmetros Cinéticos</i>	79
4.2.5	<i>Composição dos Extratos</i>	81
4.2.6	<i>Análise dos Custos</i>	89
4.2.7	<i>Análise Estatística</i>	90
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	91
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA MATRIZ VEGETAL.....	91
5.1.1	<i>Caracterização do Leito Fixo</i>	91
5.1.2	<i>Composição Centesimal</i>	92
5.2	ISOTERMAS DE RENDIMENTO GLOBAL.....	93
5.3	CINÉTICA DA EXTRAÇÃO	96
5.4	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS	100
5.4.1	<i>Cromatografia em Camada Delgada</i>	100
5.4.2	<i>Fenóis Totais</i>	103
5.4.3	<i>Flavonóides Totais</i>	104
5.4.4	<i>Tocóis Totais</i>	105
5.4.5	<i>Ácidos Graxos</i>	107
5.4.6	<i>Atividade Antioxidante</i>	109
5.5	ANÁLISE DE CUSTOS.....	115

6	CONCLUSÕES	119
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
8	APÊNDICE	129
	APÊNDICE A - DADOS DAS ISOTERMAS DE RENDIMENTO GLOBAL	129
	APÊNDICE B - DADOS DOS ENSAIOS CINÉTICOS	130
	APÊNDICE C - DADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS	132
	APÊNDICE D - DADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES	133
	APÊNDICE E - DADOS DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	134
	APÊNDICE F - DADOS DO TEOR DE TOCÓIS	136
	APÊNDICE G - DADOS DE COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS	141

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento científico a respeito de componentes alimentícios que previnem e/ou tratam doenças específicas tem crescido cada vez mais nos últimos anos, o que tem gerado um aumento no número de produtos potencialmente nutricionais com benefícios medicinais e para a saúde, comumente denominados de alimentos funcionais. Os componentes alimentícios que agregam características a esses alimentos constituem substâncias bioativas pertencentes ao grupo dos compostos do metabolismo secundário de vegetais denominados compostos fitoquímicos. Muitas dessas substâncias têm comprovada ação quimiopreventiva como, por exemplo, pro-vitaminas e vitaminas com atividade antioxidante as quais podem ser utilizadas especificamente para retardar ou reverter o processo de carcinogênese [BRAGA, 2005].

Nesse âmbito, o Brasil é detentor de uma das mais abundantes biodiversidades do mundo apresentando grande potencial como produtor de matrizes vegetais com atividade biológica. Entretanto, muito pouco tem sido realizado para transformar este potencial em uma realidade competitiva, principalmente considerando-se o desenvolvimento como forma de inserção social e de proteção e manutenção desses ecossistemas. O desenvolvimento realizado a partir dos sistemas nacionais de inovação e instituições de pesquisa representa uma alternativa concreta e viável para o desenvolvimento de novos produtos, técnicas e metodologias promovendo, em termos gerais, a inserção competitiva desses recursos naturais no mercado mundial.

Nas últimas décadas, tem-se verificado o crescente interesse das indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia nos produtos de origem vegetal, cuja vasta flora nacional propicia uma ampla variedade de metabólitos e aplicações dos mesmos. Para a obtenção desses compostos, diversos métodos de extração podem ser utilizados: desde os mais convencionais, como soxhlet e hidrodestilação, às tecnologias mais recentes,

como extração com ultrassom, extração assistida por microondas e a extração com fluido supercrítico (SFE – *Supercritical Fluid Extraction*) [VELASCO et al., 2007].

Na determinação do método mais adequado a ser empregado, os fatores mais relevantes podem ser divididos com relação a economia e a qualidade do processo. Dessa maneira, variáveis como custo, produtividade e rendimento possuem implicações econômicas importantes na determinação da viabilidade industrial do processo, enquanto a qualidade do produto sofre forte influência da seletividade do processo aplicado.

A extração com fluidos supercríticos consiste em uma tecnologia com significativas vantagens em relação aos processos de extração convencionais, sendo as principais: ausência de tensão superficial permitindo a rápida penetração do solvente; alta variabilidade da densidade frente a pequenas variações de temperatura e/ou pressão, possibilitando a manipulação do poder de solvatação e, por conseguinte, a seletividade do processo; coeficiente de difusão e viscosidade semelhante a dos gases, minimizando os gastos energéticos; e inexistência de resíduos químicos. O dióxido de carbono é o fluido supercrítico mais comumente utilizado na indústria de alimentos devido seu caráter atóxico, não inflamável, não corrosivo, não oneroso e estável. Ademais, pode ser facilmente obtido com diferentes graus de pureza e possui baixos pontos críticos de temperatura e pressão, o que possibilita trabalhar com compostos termolábeis sem degradá-los [BRUNNER, 1994; CLIFFORD, 1998; LUQUE DE CASTRO et al., 1994; TAYLOR, 1996]. Apesar dessas vantagens, o processo de extração com dióxido de carbono supercrítico está associado a um alto custo de investimento. Por essa razão, a instalação de novos projetos de extração supercrítica está intimamente relacionada à otimização das condições operacionais que devem resultar em melhoria na qualidade, minimização dos custos e, conseqüentemente, aperfeiçoamento da viabilidade econômica do mesmo.

Embora essa tecnologia já venha sendo estudada há muitos anos no Brasil, e da vasta disponibilidade de matéria-prima de alta qualidade e a baixo custo no país, ainda

não existe na América Latina nenhuma planta industrial em funcionamento. Além disto, a produção de oleaginosas tem mostrado um notável aumento nas últimas décadas cuja evolução deve-se ao crescente consumo de gorduras comestíveis, como óleos vegetais e seus produtos, devido à substituição gradual da gordura animal pela de origem vegetal durante as últimas décadas. Essa mudança está relacionada com a noção de estilo de vida saudável e a necessidade de consumo por alimentos com uma influência positiva à saúde, aumentando o uso de alimentos ricos em compostos com comprovado benefício. Sendo assim, estudos visando o conhecimento sobre as possibilidades de comercialização de matrizes oleaginosas são necessários para proporcionar o beneficiamento social, econômico e ambiental através da valorização e/ou do aproveitamento de seus produtos e subprodutos o que implica em uma maior competitividade, e conseqüente, expansão comercial, uma vez que se observa uma tendência generalizada do mercado em relação à busca por produtos que não agridam o meio ambiente, gerem vantagens econômicas e possibilitem o desenvolvimento social. Dessa maneira, este trabalho pretende avaliar o processo de extração supercrítica de matriz vegetal oleaginosa de origem Amazônica, através da determinação e caracterização dos parâmetros de processo e composição química dos extratos obtidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Otimização do processo de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de matriz vegetal oleaginosa de origem Amazônica, através da determinação das isotermas de rendimento global, dos parâmetros cinéticos de processo e da caracterização química dos extratos obtidos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização química e física da matéria-prima;
- Determinação das isotermas de rendimento global (GYI - *Global Yield Isotherms*) para diferentes temperaturas e pressões;
- Determinação da razão solvente/alimentação (S/F) mais adequados para a extração;
- Construção das curvas globais de extração (OEC - *Overall Extraction Curves*);
- Cálculo dos parâmetros cinéticos do processo;
- Caracterização química dos extratos obtidos em relação ao teor de tocoferóis, tocotrienóis, fenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e composição em ácidos graxos;
- Análise dos custos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MATRIZ OLEAGINOSA

O conhecimento científico a respeito da utilização de produtos naturais com propriedades funcionais, nutracêuticos e suplementos alimentares na prevenção e/ou tratamento de doenças específicas tem crescido cada vez mais nos últimos anos [BRAGA, 2005; LEAL, 2005]. A ADA - *American Dietetic Association* [1995] define alimento funcional como “qualquer alimento ou ingrediente modificado capaz de propiciar efeito benéfico além daquele provido por nutrientes nutricionais que ele contém”, e nutracêutico como “qualquer substância que possa ser considerada alimento ou parte deste e ofereça benefícios médicos, incluindo prevenção e tratamento de doenças”.

Muitas dessas substâncias que dão características aos alimentos funcionais são substâncias bioativas pertencentes ao grupo dos compostos do metabolismo secundário de plantas, também denominadas de compostos fitoquímicos, e podem ser definidas como substâncias altamente ativas do ponto de vista nutricional, fisiológico e/ou medicinal [GOLDBERG, 1994]. Dessa maneira, muitas atividades funcionais são atribuídas aos extratos brutos e princípios ativos extraídos de plantas nativas brasileiras como atividade antioxidante, anticarcinogênica, anti-HIV, antimicrobiana, anti-malária, hipoglicêmica, dentre outras [LEAL, 2003; QUISPE-CONDORI, 2005].

Nas últimas décadas tem-se verificado o crescente interesse das indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia nos produtos de origem vegetal cuja vasta flora nacional propicia uma ampla variedade de metabólitos e aplicações dos mesmos [VELASCO et al., 2007]. O Brasil constitui um dos maiores produtores mundiais de frutas, condimentos, plantas aromáticas e medicinais, sendo considerado o país com a maior biodiversidade genética vegetal no mundo, possuindo mais de 55.000 espécies

dentre um total de 350.000 plantas catalogadas [PEREIRA & MEIRELES, 2007; ROSA & MEIRELES, 2005; NODARI & GUERRA, 2004]. Além disso, possui longa tradição como produtor agrícola podendo garantir grande disponibilidade de matérias-primas de boa qualidade e a baixo custo [ROSA & MEIRELES, 2005].

A produção de oleaginosas tem mostrado um notável aumento nas últimas décadas. Esta evolução deve-se ao crescente consumo de gorduras comestíveis, como óleos vegetais e seus produtos, devido à substituição gradual da gordura animal pela de origem vegetal. A mudança está relacionada com a noção de estilo de vida saudável e a necessidade de comer alimentos com uma influência positiva na saúde, aumentando o uso de alimentos ricos em compostos com comprovado benefício [TUBEROSO, 2007].

Dessa maneira, estudos visando o conhecimento sobre as possibilidades de comercialização de matrizes oleaginosas são necessários para proporcionar o beneficiamento social, econômico e ambiental através da valorização e/ou do aproveitamento de seus produtos e subprodutos. Isso implica em uma maior competitividade, e conseqüente, expansão comercial, uma vez que se observa uma tendência generalizada do mercado em relação à busca por produtos que não agridam o meio ambiente, gerem vantagens econômicas e possibilitem o desenvolvimento social.

Diante disso, a matéria-prima para este trabalho foi selecionada baseando-se em suas características fitoquímicas para a obtenção de extratos oleaginosos com potencial capacidade antioxidante, visando o aproveitamento de um subproduto industrial, bem como sua possível utilização nas indústrias farmacêutica, cosmética e/ou alimentícia.

3.2 CUPUAÇU (THEOBROMA GRANDIFLORUM)

3.2.1 Aspectos Gerais

A fruticultura na Amazônia tem se destacado como uma das mais atraentes atividades agrícolas da região, com perspectiva de diversificação do parque industrial,

pela implantação de agroindústrias, gerando empregos diretos e indiretos [SOUZA et al., 1999].

Diante disso, a cultura do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.), fruta nativa da Amazônia, se destaca como a segunda mais comercialmente explorada na região, tendo grandes possibilidades de participação na lista das frutas tropicais de excelente valor comercial. A polpa, pelas características de acidez, teor de pectina, aroma ativo e sabor muito agradável, se constitui em uma importante matéria-prima para a indústria no processamento de sucos, sorvetes, doces, geléias, néctares, iogurtes, biscoitos e outras iguarias [CARVALHO et al., 2006].



Figura 3.1 – Fruto do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*).

As amêndoas consistem em um importante subproduto da indústria de transformação da polpa, sendo apontadas como uma importante fonte protéica devido ao seu alto valor biológico quando comparada às proteínas do cacau, o que tem aumentado sua utilização na produção de um produto similar ao chocolate, o “cupulate” [CARVALHO et al., 2006; NAZARÉ et al., 1990] e a gordura na indústria de cosmético. Para cada 100 kg de sementes frescas, são obtidos 45,5 kg de sementes secas, 42,8 kg de sementes torradas e 31,2 kg de amêndoas sem casca. Destas pode-se obter 13,5 kg de manteiga

de cupuaçu, que é usada na formulação do cupulate em tabletes [NAZARÉ et al., 1990; LOCATELLI, 1996].

Além disso, a cultura do cupuaçu tem forte tendência ao crescimento acentuado a curto e médio prazos em virtude do amplo mercado, da grande aceitabilidade dos derivados do fruto e por ser um importante componente dos sistemas agroflorestais. Assim, a contínua expansão dos plantios tem gerado grande demanda por informações [SOUZA et al., 1999] e pesquisas objetivando melhorias na forma de cultivo e desenvolvimento de processos extrativos visando produtos de alta qualidade [LOCATELLI, 1996].

3.2.2 Origem e Distribuição

O gênero *Theobroma* é tipicamente da região neotropical, distribuído em floresta tropical úmida, no hemisfério ocidental, entre as latitudes 18º norte e 15º sul. A espécie *T. grandiflorum* ocorre espontaneamente nas matas de terra firme e várzea alta, na parte sul e leste do Pará, abrangendo as áreas do médio Tapajós, rios Xingu e Guamá, alcançando o nordeste do Maranhão [CUATRECASAS, 1964; DUCKE, 1940]. Contudo, atualmente encontra-se distribuída por toda a bacia Amazônica [VENTURIERI et al., 1993; ROCHA NETO et al., 1999].

3.2.3 Descrição e Características Botânicas

O nome cupuaçu vem da língua tupi (*kupu* = que parece com o cacau + *uasu* = grande). De acordo com CARVALHO et al. [2006], o cupuaçuzeiro possui as seguintes características botânicas:

- Ordem: *Malvales*;
- Família: *Sterculiaceae*;
- Gênero: *Theobroma*;

- Espécie: *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.

O fruto, o maior dentre os do gênero *Theobroma*, tem as características de drupa e de baga, apresentando-se de forma alongada e com as extremidades arredondadas, classificando-se em diferentes formatos. O comprimento varia de 12 a 25 cm e o diâmetro de 10 a 12 cm. Seu peso situa-se entre 0,5 e 4,5 kg, com média de 1,3 kg [VENTURIERI et al., 1993; ROCHA NETO et al., 1999]. Nele as sementes, em número médio de 32 unidades (variam de 9 a 62 por fruto), se sobrepõem em cinco fileiras verticais, envoltas por uma polpa branco-amarelada de sabor acidulado e odor agradável [CARVALHO et al., 2006].

Segundo CALZAVARA et al [1984], o cupuaçu é classificado em função de suas características morfológicas da seguinte maneira:

- Cupuaçu redondo: frutos de extremos arredondados com peso de 1,5 kg, casca com 6 a 7 mm de espessura, sementes médias, é a variedade mais comum na Amazônia;
- Cupuaçu casca fina: semelhante ao redondo, porém com casca de 4 a 5 mm de espessura, formato cilíndrico levemente anguloso nas laterais;
- Cupuaçu mamorana: frutos com casca grossa, 7 a 9 mm, chegando a pesar até 4 kg, extremidades alongadas, sementes grandes;
- Cupuaçu de colares: apresentam casca com 6 a 7 mm de espessura, sem angulações nas laterais, largo na parte próxima ao pedúnculo e estreito na posterior, peso médio levemente superior ao cupuaçu redondo;
- Cupuaçu mamau: formato semelhante ao do cupuaçu redondo, apresentam casca de 6 a 7 mm, peso médio de 1,5 kg, porém sem sementes.

A produtividade das árvores quando se utiliza fertilizante, em plantios com 5 anos, fica em torno de 20 a 30 frutos/planta obtendo-se uma produtividade anual de 4,7 a 7 toneladas de frutos por hectare. Já em plantios com 7 anos tem-se 60 a 70 frutos/planta,

obtendo a produtividade anual na faixa de 14 a 15,4 toneladas de frutos por hectare **[VENTURIERI, 1993]**.

A colheita é feita normalmente recolhendo-se os frutos maduros que caem espontaneamente. Após a colheita podem permanecer em torno de uma semana em condições satisfatórias para o consumo ou beneficiamento. Por ser um fruto não climatérico, recomenda-se que a maturação do fruto se complete na planta, pois, uma vez colhido, o fruto geralmente não completa a maturação e não desenvolve seu sabor e aroma característicos, tornando-se inapropriado **[VENTURIERI, 1994; CARVALHO et al., 2006]**.

3.2.4 Importância Econômica e Social

A expressão econômica de uma cultura pode ser avaliada sob vários aspectos. Dentre eles, destacam-se as formas de aproveitamento da matéria-prima obtida; o volume produzido e comercializado; a área plantada; e até mesmo os esforços e as atividades de pesquisa, tudo isso demonstrando de maneira direta a maior ou menor demanda de tecnologia para produzir a cultura **[GONDIM et al., 2001]**.

O cupuaçuzeiro é uma planta que passou por um processo de substituição do extrativismo para a forma de cultivo domiciliar devido, principalmente, ao aumento da demanda nacional e internacional, o que tem proporcionado o gradativo aumento da exploração dessa cultura. Além disso, sendo uma espécie de boa adaptação à sombra, o cupuaçuzeiro propicia a formação de consórcios com outras plantas de porte florestal, permitindo resultados econômicos e ecológicos satisfatórios **[MULLER et al., 1995]**.

Quanto ao valor social, para o pequeno produtor extrativista, o cupuaçuzeiro é uma espécie de grande importância, pela utilização da mão-de-obra familiar no beneficiamento primário da polpa dos frutos, agregando valor comercial ao produto. Apesar disso, para a produção e o aproveitamento em escala comercial, ainda faltam tecnologias de cultivo e

processamento que possam viabilizar uma produção consistente, capaz de assegurar os investimentos agroindustriais de empresas consumidoras do produto **[ROCHA NETO et al., 1999]**.



Figura 3.2 – Fruto cupuaçu aberto e fechado.

3.2.5 Aplicação, Composição Química e Valor Nutricional

O rendimento da polpa varia de acordo com o tamanho do fruto, genótipo, localidade de produção e período de colheita. A composição média dos frutos constitui-se de 43% de casca, 38% de polpa, 17% de sementes e 2% de placenta **[VENTURIERI et al., 1993]**. As principais características químicas da polpa estão apresentadas na Tabela 3.1. Como fonte de proteínas e de gorduras, a polpa do cupuaçu é bastante pobre, apresentando valores de 1,92% e 0,48%, respectivamente **[GONDIM et al., 2001]**.

O desenvolvimento da indústria da polpa do cupuaçu, que atualmente é o principal produto da fruta, tem se destacado nos últimos anos. Já a semente, por outro lado, na maioria das vezes é descartada como um subproduto indesejável, transformada em ração animal ou fertilizante, não tendo, assim, todo o seu potencial explorado **[AGUIAR & VENTURIERI, 1988]**. Contudo, nos últimos anos, a aplicação comercial das amêndoas tem ganhado importância, passando a existir no mercado empresas que comercializam produtos a base da amêndoa do cupuaçu **[VENTURIERI, 1998]**.

Tabela 3.1 - Valor nutricional de 100g de polpa de cupuaçu .

Componentes	Unidades	Valor
Acidez	g	2,2
Brix	-	0,8
pH	-	3,3
Umidade	g	89,0
Aminoácidos	mg	21,9
Extrato etéreo	g	0,5
Cinzas	g	0,7
Sólidos totais	g	11,0
Açúcares redutores	g	3,0
Pectina	mg	390,0
Fósforo	mg	310,0
Cálcio	mg	40,0
Vitamina C	mg	23,1

Fonte: [ROCHA NETO et al., 1999]

Tabela 3.2 - Composição centesimal das sementes de cupuaçu e cacau em base úmida [adaptado de AZEVEDO, 2001].

Fruto	Cupuaçu			Cacau
	1	2	3	2
Referência				
Umidade (%)	5,66*	8,38*	5,30	55,00
Proteínas (%)	20,00	11,86	7,81	12,92
Lipídeos (%)	50,80	57,73	61,50	48,15
Carboidratos (%)	15,90*	24,25*	23,09	9,23
Fibras (%)	9,60	1,94	5,56	4,90
Cinzas (%)	3,70	4,00	2,30	4,00

* percentual em base seca.

(1) SILVA, 1988; (2) PHILOCREON, 1962; (3) QUEIROZ, 1999 apud AZEVEDO [2001]

Uma análise da composição centesimal das sementes apresentada na Tabela 3.2, nos mostra um percentual de gordura para o cupuaçu de 50-60%, valores muito próximos ao percentual de gordura presente na semente de cacau, 48%. Aliado a isso, a gordura

do cupuaçu apresenta alta digestibilidade (cerca de 91%) [VENTURIERI, 1998] e pode ter aplicações tanto alimentícias como cosméticas [VENTURIERI, 1993]. Um exemplo é a são indústrias localizadas no estado do Pará que extraem o óleo de cupuaçu por prensagem direta e comercializam o produto para países como Japão e Inglaterra [AZEVEDO, 2001].

Com respeito aos ácidos graxos constituintes na gordura contida nas sementes de cupuaçu, de acordo com a Tabela 3.3, pode-se verificar que os principais são os ácidos graxos: oléico, araquídico, linoléico, palmítico e esteárico os quais são, aproximadamente, os principais constituintes também da gordura contida na manteiga de cacau [VASCONCELOS et al., 1975; AZEVEDO, 2001]. Tal propriedade, juntamente com a boa qualidade protéica das sementes, confere à manteiga de cupuaçu uma boa aplicabilidade alimentícia.

Tabela 3.3 - Percentual de ácidos graxos contidos nas gorduras das sementes de cupuaçu e cacau [adaptado de AZEVEDO, 2001].

Nomenclatura		Cupuaçu				Cacau
Popular	IUPAC	1	2	3	4	1
Mirístico	C14:0	traços	nd	nd	traços	0,1-0,3
Palmítico	C16:0	7,2	6,7	5,8	11,5	25,0-28,0
Palmitoleico	C16:1	0,1	nd	nd	nd	0,4-0,7
Heptadecanoico	C17:0	0,2	nd	nd	nd	nd
Esteárico	C18:0	30,8	35,5	38,3	31,8	33,0-37,0
Oléico	C18:1	43,9	45	42,8	40,3	31,0-35,0
Linoléico	C18:2	4,6	3,3	8,3	5,6	2,0-3,5
Linolênico	C18:3	traços	nd	nd	1	0,2
Araquídico	C20:0	11	9,1	4,8	9,8	0,6-1,0
Galadoleico	C20:1	0,4	nd	nd	nd	nd
Behêmico	C22:0	1,8	nd	nd	nd	0-0,1

(1) SILVA, 1988; (2) CHAAR, 1980; (3) VASCONCELOS, 1975; (4) BERBERT, 1981 apud AZEVEDO [2001].

Com relação à aplicabilidade da manteiga de cupuaçu nas indústrias farmacêutica e cosmética, observando as Tabela 3.3 e Tabela 3.4, verifica-se que esta constitui um triglicerídeo que apresenta uma composição equilibrada de ácidos graxos saturados e insaturados, o que confere ao produto um baixo ponto de fusão (aproximadamente 30°C) e aspecto de um sólido macio que funde rapidamente ao entrar em contato com a pele. Em adição, a manteiga de cupuaçu possui alta capacidade de absorção de água, aproximadamente 240% superior a da lanolina anidra e de alguns esteróis de origem animal e vegetal. Essa propriedade faz dela um produto capaz de auxiliar na estabilidade das emulsões, provavelmente devido às pontes de hidrogênio formadas entre as moléculas de água e os fitoesteróis, o que se relaciona também com as propriedades hidratantes do produto. Ademais, a manteiga de cupuaçu apresenta um certo grau de absorvância de raios UV, especialmente em UVB e UVC, porém não podendo ser medido como FPS (Fator de Proteção Solar). A manteiga de cupuaçu é um emoliente que proporciona um toque agradável, maciez e suavidade à pele, possibilitando a recuperação da umidade e elasticidade natural com alto poder de hidratação. Por fim, os fitoesteróis (especialmente β -sitosterol) presentes na manteiga de cupuaçu atuam a nível celular regulando o equilíbrio e a atividade dos lipídeos da camada superficial da pele. Os fitoesteróis têm sido utilizados topicamente no tratamento de dermatites e afecções por estimular o processo de cicatrização.

Na determinação dos teores de alcalóides presentes em sementes de quatro espécies de *Theobroma* (*grandiflorum*, *subincanum*, *speciosum* e *mariae*) por HPLC em fase reversa foi detectado no cupuaçu um teor de 0,38% do ácido 1,3,7,9-tetrametilúrico e nenhuma presença de cafeína ou teobromina [MARX & MAIA, 1991; BAUMANN & WANNER, 1980, VASCONCELOS et al., 1975]. Isso representa uma vantagem sobre o cacau o qual apresenta percentual de teobromina e cafeína de 1,2-2 e 0,2%, respectivamente, pois a teobromina em concentrações elevadas é prejudicial à saúde [GILMAN, 1991].

Tabela 3.4 - Caracterização da qualidade da gordura das sementes de cupuaçu e cacau [VASCONCELOS et al., 1975].

Propriedades	Cupuaçu	Cacau
pH	5,7	6,3
Ponto de Fusão (°C)	32-34	30-35
Densidade específica (25/25°C)	0,9074	0,973
Índice de Refração	1,458	1,456-1,457
Índice de Acidez	4,2	1-4
Índice de Iodo	45,9	32-42
Índice de Saponificação	174,6	192,2
Insaponificáveis (%)	0,6	0,3-0,8

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, retarda ou previne a oxidação de um substrato [HALLIWELL, 1995]. Quando o mecanismo de ação do antioxidante for através de sua reação como radical livre, o novo radical formado deve ser estável e incapaz de propagar a reação [SHAHIDI et al., 1992; LIMA, 2008; GIADA, 2006].

Os antioxidantes são comumente classificados em sintéticos e naturais. Os antioxidantes sintéticos são comumente utilizados na indústria de alimentos para aumentar a vida de prateleira dos alimentos. São exemplos de antioxidantes sintéticos: o butilhidroxitolueno (BHT), o butilhidroxianisol (BHA), o propilgalato (PG) e o terciobutilhidroxinona (TBHQ) [BARREIROS & DAVID, 2006]. O consumo desses compostos tem sido associados a malefícios a saúde [GUNDUC & EL, 2003; SVILAAS et al., 2004]. Isso tem levado a indústria de alimentos a reduzir seu uso, além de buscar outras alternativas, ainda que parciais, por antioxidantes naturais. Existem fórmulas, já comercializadas, para adição em alimentos, elaboradas a partir de substratos com alto potencial antioxidante, como os extratos de alecrim e orégano [TRINDADE, 2007]. Dessa

forma, pesquisas têm enfatizado o desenvolvimento e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais como o tocoferol e o ácido ascórbico **[VASCONCELLOS, 2007; LIMA, 2008; GIADA, 2006]**.

A hipótese de a dieta afetar o dano oxidativo fundamenta-se em que os alimentos proporcionam tanto substâncias antioxidantes, nutrientes ou não nutrientes, com capacidade para combater os radicais livres, como substratos oxidáveis, como ácidos graxos poliinsaturados e traços de metais. Dessa forma, os alimentos podem exercer tanto efeitos positivos quanto negativos no equilíbrio entre o dano oxidativo e as defesas frente ao dano **[GIADA & MANCINI-FILHO, 2006; LIMA, 2008]**.

Os diferentes compostos antioxidantes da dieta podem produzir efeitos sinérgicos difíceis de serem avaliados. A dieta deve ser considerada de forma complexa, onde as interações entre os constituintes podem produzir efeitos que não representam necessariamente as propriedades dos constituintes individuais. Dessa maneira, a atividade antioxidante de qualquer alimento fornece uma idéia da contribuição relativa da soma dos seus constituintes antioxidantes, proporcionando uma informação valiosa, que vai além da sua composição química **[RICE-EVANS, 1999]**. Dentre os antioxidantes naturais, os mais comumente utilizados são os carotenóides, as vitaminas E e C e os compostos fenólicos **[LIMA, 2008; GIADA, 2006]**.

Estudos atribuem capacidade antioxidante a compostos minoritários presentes em oleaginosas como o tocoferol, esqualeno, clorofila e compostos fenólicos, devido às suas atividades contra doenças cardiovasculares e oxidação lipídica. A capacidade também é atribuída à presença de compostos fenólicos e tocoferóis na estabilidade de óleos. Ácidos graxos insaturados e os carotenóides afetam o processo autoxidativo agindo como pró ou antioxidantes **[TUBEROSO et al., 2007]**.

O mais importante grupo de antioxidantes naturais presentes em óleos comestíveis brutos ou refinados são os tocoferóis. Os tocoferóis são compostos monofenólicos, existentes em vegetais, principalmente em sementes oleaginosas e

folhas, que possuem atividade antioxidante e vitamina E. Eles estão agrupados em duas séries de compostos que possuem estrutura química semelhante e recebem o nome genérico de tocóis: tocoferóis e tocotrienóis. A estabilidade oxidativa de óleos pode ser aumentada eficientemente pela adição de tocoferóis puros ou outros óleos contendo apenas tocoferóis como antioxidantes naturais [SCHMIDT & POKORNY, 2005; ANGELO & JORGE, 2007; GIADA, 2006].

Como o uso de antioxidantes sintéticos tem sido severamente restringido pela indústria de alimentos devido aos efeitos colaterais como alergias e possíveis ações promotoras de câncer [RIZVI, 1994 apud LEAL, 2005], pesquisas têm enfatizado o desenvolvimento e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais [GIADA, 2006; LIMA, 2008].

3.3.1 Método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico

Esse tipo de avaliação da atividade antioxidante é realizada em meio emulsionado, pela técnica de co-oxidação de substratos. Inicialmente descrito por MARCO [1968] e modificado por MILLER [1971] esse método consiste em um método colorimétrico, realizado em comprimento de onda de 470 nm, baseado na leitura referente à descoloração da solução preparada com β -caroteno e ácido linoléico, em meio aquoso. A descoloração ocorre em função das estruturas radicalares formadas pela oxidação do ácido linoléico, que atacam as duplas ligações do β -caroteno, perdendo seu cromóforo, resultando na descoloração do pigmento alaranjado, característico da solução. A presença de antioxidantes no sistema protege o ácido linoléico, prolongando o período de formação dos radicais [HUANG & WANG, 2004].

Em geral, utiliza-se o antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) como padrão positivo para comparação dos resultados. Esse método tem sido utilizado para analisar diversas matrizes alimentares, principalmente frutos e sementes ricas em lipídeos.

Nessa metodologia, acompanha-se o decaimento da absorvência das amostras, do controle e do BHT, por 120 minutos. A partir dessas curvas, **YANISHLIEVA & MARINOVA [1995]** desenvolveram um cálculo matemático em que, na parte inicial da curva (período entre 15 e 45 minutos), é mensurada a eficiência do antioxidante em bloquear a reação em cadeia (F1 – fator de estabilização) por meio de interação com os radicais peróxidos, denominados antioxidantes primários. No intervalo final da curva (período entre 75 e 105 minutos), infere-se a possibilidade de o antioxidante participar de outras reações durante o processo oxidativo, como a decomposição dos hidroperóxidos com oxigênio, produzindo espécies radicalares que aceleram a oxidação no sistema. Esse recurso tem sido bastante empregado na avaliação da atividade antioxidante **[NASCIMENTO et al., 2006; JARDINI & MANCINI-FILHO, 2007]**.

3.4 MÉTODOS CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO

Os processos de extração consistem em operações unitárias que visam a separação de determinados compostos a partir de uma matriz através de processos químicos, físicos ou mecânicos. De acordo com a fase da matriz, existem três tipos básicos de processos extrativos: extração sólido-líquido, extração líquido-líquido e extração gás-líquido **[TZIA & LIADAKIS, 2003; VELASCO et al., 2007]**.

O processo de extração sólido-líquido define-se como sendo uma operação unitária de transferência de massa multicomponente, de várias fases e sob regime transiente cuja finalidade é retirar um ou mais componentes contidos em uma fase sólida (soluto) para uma fase líquida (solvente). De acordo com o objetivo do processo, a extração sólido-líquido pode ser denominada de diversas maneiras como, por exemplo, lixiviação, percolação, etc. **[IBARZ & BARBOSA-CÁNOVAS, 2003; TZIA & LIADAKIS, 2003]**. O processo de extração sólido-líquido (ou simplesmente extração) consiste em um importante processo de separação com grande utilidade na indústria de alimentos como nos processos de extração de: açúcar da cana, óleos e gorduras de sementes

oleaginosas, fitoquímicos de plantas, hidrocolóides funcionais de algas, etc. Além disso, este processo extrativo pode ser utilizado também para a eliminação de componentes indesejáveis, como contaminantes e/ou toxinas presentes em alimentos [TZIA & LIADAKIS, 2003].

Os processos convencionais de extração fundamentam-se na seleção do solvente associado com o uso do calor e/ou agitação. Esses processos incluem a hidrodestilação (HD - *Hydrodistillation*) e os processos de extração a baixa pressão (LPSE - *Low Pressure Solvent Extraction*), sendo o Soxhlet a técnica padrão utilizada como principal referência para avaliar o rendimento de outros métodos de extração sólido-líquido [LUQUE DE CASTRO & GARCÍA-AYUSO, 1998]. As principais desvantagens desses processos são seus altos tempos de residência, grandes quantidades de solvente requeridas e degradação térmica, além dos seus possíveis resíduos muitas vezes proibidos em alimentos [SEBASTIÁN et al., 1998].

De acordo com HUIE et al. [2002], vários métodos de extração podem ser aplicados para a obtenção de compostos de interesse. Com relação à escolha do processo mais adequado, vários fatores devem ser considerados [AL-JABARI, 2002], como custo, rendimento, produtividade e seletividade. Os três primeiros fatores possuem implicações econômicas importantes e determinam a viabilidade da aplicação industrial do processo. Já a seletividade está intimamente relacionada com a qualidade do produto obtido [QUISPE-CONDORI, 2005].

3.4.1 Métodos Convencionais de Extração de Óleos e Gorduras

Na natureza existem diversos meios de interação entre os lipídios e outras moléculas como, por exemplo, ligações de van der Waals, pontes de hidrogênio e ligações covalentes entre lipídios, carboidratos e proteínas. Dessa maneira, diversos processos físicos e químicos devem ser empregados para separar e isolar lipídios de

matrizes celulares complexas. Os processos convencionais de extração de óleos e gorduras usualmente utilizados são: prensagem direta, extração com solvente e extração com solvente associada à prensagem [EGGERS, 1996].

Nos processos de extração com solventes, a solubilidade constitui uma importante propriedade utilizada como princípio para a separação de lipídios de outros componentes celulares. Sendo assim, a completa extração pode requerer longos tempos de extração e/ou uma série de combinações de solventes para que os lipídios possam ser solubilizados e extraídos [AKOH & MIN, 2007].

Além disso, os processos convencionais de extração e refino de óleos e gorduras possuem diversos inconvenientes como a utilização de solventes orgânicos tóxicos como o hexano, por exemplo, além de condições severas de temperatura. De maneira geral, os processos de extração de óleos e gorduras podem ser divididos em três etapas básicas: pré-tratamento, extração e refino. Dentre estas, os procedimentos envolvidos no pré-tratamento das sementes oleaginosas são comuns a todos os processos [AZEVEDO, 2001].

3.4.1.1 Pré-tratamento

A etapa inicial de pré-tratamento das sementes oleaginosas consiste na limpeza a qual visa separar os grãos de materiais estranhos e contaminantes, como peças de metal, ramos das plantas, folhas, etc. Nessa etapa são utilizados equipamentos como: peneiras vibratórias, aspiradores e equipamentos eletromagnéticos [HOFFMANN, 1989].

As etapas de moagem, laminação e cozimento visam reduzir o tamanho das partículas e facilitar a remoção do óleo através da maior área superficial disponível para a transferência de massa e ruptura dos tecidos celulares onde se encontra armazenado o óleo [AZEVEDO, 2001].

3.4.1.2 Extração Mecânica ou Prensagem

A extração por prensagem se realiza através da utilização de prensas, muitas vezes visando remoção parcial do óleo. Além disso, consiste em um processo com baixa eficiência, sendo recomendado apenas para óleos e gorduras sensíveis a altas temperaturas ou com especiais características sensoriais que seriam perdidas se utilizados processos químicos. Em geral, esse processo é utilizado como uma forma de reduzir o percentual de óleo na torta que, em seguida, é alimentada a um processo químico constituindo assim os denominados processos mistos. Dessa maneira, pode-se verificar que, exceto em casos especiais como o óleo de oliva, a extração dos óleos e gorduras por prensagem não constitui um processo rentável, sendo na maioria das vezes necessária a associação com um processo de extração com solventes [HOFFMANN, 1989].

O processo de extração por prensagem pode-se dar de forma contínua ou em batelada. Na prensagem contínua a massa é comprimida por um eixo helicoidal que gira dentro de um recipiente com aberturas por onde entra a alimentação e por onde sai o óleo. Já no processo de prensagem em batelada a massa é prensada por um cilindro hidráulico dentro de um recipiente. Este último processo possui a vantagem de poder operar a baixas temperaturas [AKOH & MIN, 2007].

3.4.1.3 Extração por Solvente

De acordo com AZEVEDO [2001], os processos de extração por solvente podem ser em batelada, semi-contínuos e contínuos. Nos processos em batelada de um único estágio grandes quantidades de solvente são requeridas para conseguir um rendimento aceitável. Nesse processo de extração o solvente mais comumente utilizado é o hexano o qual apresenta diversas desvantagens cujas principais são o fato de ser inflamável, carcinogênico e não biodegradável. Outros solventes pesquisados como triclorfluoretano, tricloroetileno e etanol proporcionam também alto risco à saúde e ao meio ambiente.

Primeiramente as sementes pré-tratadas entram em contato com o solvente. Em seguida a mistura é alimentada ao sistema de destilação o qual ocorre em duas etapas. Na primeira o percentual do solvente é reduzido para cerca de 5% a uma temperatura entre 70 e 90°C, e posteriormente para os níveis aceitáveis pela legislação através de um evaporador de filme. Por fim, a torta que deixa o extrator alimenta o sistema de torrefação e recuperação de solvente, este é regenerado e o óleo segue para a etapa de refino [AZEVEDO, 2001].

3.4.1.4 Refino

Degomagem

Nesta etapa são removidos fosfatídeos, proteínas e substâncias coloidais a fim de reduzir a quantidade de álcali necessária na posterior neutralização. Nem todos os óleos necessitam passar por essa etapa. O método mais usual é constituído pela adição de água em óleo sob uma faixa de temperatura de 60 a 70°C com agitação durante 20-30 minutos. O precipitado formado é então removido por centrifugação [AZEVEDO, 2001].

Neutralização

AZEVEDO [2001] afirma que a etapa de neutralização consiste na retirada dos ácidos graxos livres, proteínas e produtos de oxidação de triglicerídeos. Nesta etapa faz-se adição e dispersão de uma solução aquosa alcalina ao óleo. A neutralização ocorre na interface do óleo com a solução. O processo mais moderno ocorre de maneira contínua, onde a solução alcalina é adicionada aos óleos, a mistura é aquecida a 65-90°C e posteriormente centrifugada a fim de ocorrer a separação entre borra e óleo.

Clarificação ou Branqueamento

Esta etapa tem por finalidade reduzir o percentual de pigmentos nos óleos e gorduras. Nela, o óleo já neutralizado e seco é alimentado ao branqueador junto com a

terra clarificante (diatomácea) a uma temperatura de 80-90°C sob vácuo de 30 mmHg, e em seguida filtrado em filtros tipo placa [AZEVEDO, 2001].

Desodorização

Nesta etapa, visa-se a remoção de sabores e odores que não são desejados no produto final. As substâncias geralmente removidas nesse processo são: aldeídos, cetonas, ácidos graxos de cadeia média e curta, hidrocarbonetos, etc. O óleo é alimentado ao desodorizador, com insuflação de vapor direto. As condições de operação são: pressão absoluta de 2-8 mmHg, a fim de reduzir o consumo de vapor e temperatura na faixa de 220-250°C [AZEVEDO, 2001].

3.5 FLUIDO SUPERCRÍTICO (SF)

Um componente puro é considerado um fluido supercrítico (SF – *Supercritical Fluid*) quando sua temperatura e pressão são maiores que seus valores críticos, T_c e P_c , respectivamente [BRUNNER, 2005]. A temperatura crítica é definida como a mais alta temperatura na qual um gás pode ser convertido em líquido, devido a um aumento de pressão. A pressão crítica consiste na mais alta pressão na qual um líquido pode ser convertido em um gás, devido a um aumento de temperatura. Essas propriedades caracterizam o ponto crítico (PC) (Figura 3.3). Acima desse ponto existe a região supercrítica na qual o composto apresenta-se como um fluido de uma única fase, não condensável, exibindo algumas propriedades físico-químicas típicas de gases e outras típicas de líquidos [BRUNNER, 1994; LUQUE DE CASTRO et al., 1994; TAYLOR, 1996].

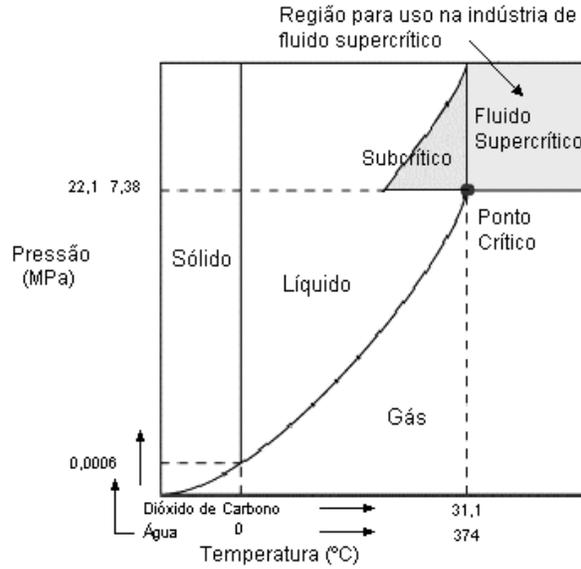


Figura 3.3 - Diagrama de fases para a água e o dióxido de carbono [adaptado de KASUYA, 2007].

A Figura 3.4 mostra o diagrama de fases de uma substância pura em função da pressão e volume específico. Na isoterma crítica ($T = T_c$), verifica-se que PC consiste no ponto de inflexão da curva (Equação 3.1), o que caracteriza uma alta taxa de variação da densidade com a pressão, aumentando, assim, consideravelmente o coeficiente de compressibilidade (κ_T) (Equação 3.2).

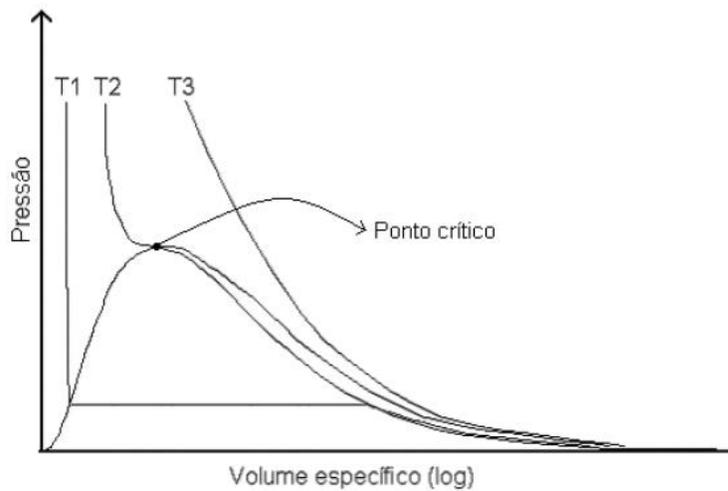


Figura 3.4 - Diagrama de fase para um composto puro [adaptado de VASCONCELLOS, 2007].

$$\left(\frac{\partial^2 P}{\partial V^2}\right)_{T=T_c} = \left(\frac{\partial P}{\partial V}\right)_{T=T_c} = 0 \quad 3.1$$

$$\kappa_T = -\frac{1}{V} \cdot \left(\frac{\partial V}{\partial P}\right)_T \quad 3.2$$

Assim, nas proximidades do ponto crítico ($T_r = 1,0-1,6$), pequenas variações na pressão ($P_r = 0,7-2,0$) acarretam grandes variações de densidade e no poder de solubilização, permitindo uma precipitação seletiva do soluto, deixando o solvente para ser reciclado. A temperaturas muito superiores à temperatura crítica ($T_r > 1,6$), altas pressões são requeridas para obter mudanças significativas na densidade [BRUNNER, 1994; CLIFFORD, 1998; LUQUE DE CASTRO et al., 1994]. Em alguns casos, efeitos similares ao estado supercrítico podem ser alcançados a temperaturas próximas a temperatura crítica, no estado líquido de uma substância, para $P > P_c$ e $T < T_c$, caracterizando o estado subcrítico (Figura 3.3) [BRUNNER, 2005].

Tabela 3.5 - Valores característicos de acordo com o estado de agregação [BRUNNER, 1994].

Estado de Agregação	Densidade (g/cm ³)	Difusividade (cm ² /s)	Viscosidade (g/cm.s)
<i>Gás</i>			
1atm e 15-30°C	(0,6-2,0).10 ⁻³	0,1 - 0,4	(0,6-2,0).10 ⁻⁴
<i>Líquido</i>			
P = 1atm, T = 15-30°C	0,6-1,6	(0,2-2,0).10 ⁻⁵	(0,2-3,0).10 ⁻²
<i>Fluido Supercrítico</i>			
P _c , T _c	0,2-0,5	0,7.10 ⁻³	(1-3).10 ⁻⁴
4P _c , T _c	0,4-0,9	0,2.10 ⁻³	(3-9).10 ⁻⁴

Da mesma maneira que a densidade, as propriedades de transporte como difusividade e viscosidade também são dependentes da temperatura e pressão, onde as variações são mais pronunciadas em regiões próximas ao ponto crítico. Valores

característicos de densidade, difusividade e viscosidade para os estados gasoso, líquido e supercrítico estão dispostos na Tabela 3.5.

A viscosidade de um SF diminui com a temperatura até um valor mínimo, após o qual aumenta com a temperatura. Às temperaturas acima do mínimo o fluido comporta-se como gás, isto é, a viscosidade aumenta com a temperatura. Às temperaturas abaixo do mínimo, comporta-se como líquido, onde a viscosidade decresce com a temperatura. Para temperaturas reduzidas entre 0,97 e 1,09 e pressões abaixo da crítica, a difusividade é inversamente proporcional à pressão (P); e, inversamente proporcional a $P^{0,5}$, para pressões maiores que a pressão crítica [PAULAITIS et al., 1983 apud DEL VALLE & AGUILERA, 1999].

Os baixos valores de viscosidade e os intermediários valores de difusividade promovem maior facilidade no transporte de massa, resultando em uma diminuição nos custos. Os altos valores de densidade, combinados com o poder de solvatação dependente da pressão, conferem alta solubilidade e seletividade ao processo. Além disso, a ausência de tensão superficial permite a rápida penetração do solvente na matriz da amostra, aumentando a eficiência da extração. Todos esses fatores combinados têm promovido o grande interesse na aplicação da tecnologia de fluidos supercríticos nos processos de separação [ROZZI & SINGH, 2002; TAYLOR, 1998].

Em adição às propriedades físico-químicas, o solvente utilizado em processos de extração na indústria de alimentos deve ser inerte, não inflamável, estável, atóxico e não corrosivo [MCHUGH & KRUKONIS, 1994]. Além dessas características, o dióxido de carbono apresenta-se disponível em grande quantidade (devido ao fato de ser subproduto de inúmeras operações industriais como fermentação, combustão e síntese de amônia, por exemplo), a um baixo custo e com alto grau de pureza, possuindo ponto crítico relativamente baixo, 31,1 °C e 7,38 MPa. Este último fator favorece a sua utilização como solvente na extração de produtos voláteis e termolábeis, uma vez que os compostos de interesse não são necessariamente expostos a altas temperaturas, as

quais poderiam induzir a degradações térmicas dos componentes do alimento [BRUNNER, 2005; ROZZI & SINGH, 2002]. Ademais, devido a sua relativa baixa pressão crítica, as pressões de operação não são necessariamente altas, reduzindo os custos de investimento e, conseqüentemente, os de manufatura. Essas propriedades são especialmente atrativas na extração de compostos de materiais biológicos o que torna o dióxido de carbono a escolha padrão nos processos de extração supercrítica na indústria de alimentos [BRUNNER, 2005; DEL VALLE e AGUILERA, 1999; MCHUGH e KRUKONIS, 1994; ROZZI & SINGH, 2002].

3.6 EXTRAÇÃO COM FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SFE)

CHARPENTIER [1988] apud VASCONCELLOS [2007] afirma que, dentre as técnicas de separação, a extração com fluido supercrítico apresenta vantagens consideráveis. Além do solvente poder ser facilmente removido do soluto através da redução da pressão e/ou ajuste da temperatura, apresenta menor requerimento energético quando comparado à destilação e possibilita uma rápida extração devido à baixa viscosidade, alta difusividade e adequado poder de solvatação do fluido supercrítico. Incluso, tem-se que a extração com fluido supercrítico requer o uso de pouco ou nenhum solvente orgânico, apresentando-se, portanto, como uma tecnologia segura e ecologicamente correta, uma vez que, industrialmente, o dióxido de carbono é recirculado no sistema [VASCONCELLOS, 2007].

A extração com fluido supercrítico de matrizes sólidas divide-se em duas etapas: extração e separação. Na extração, o fluido supercrítico escoar através de um leito fixo de partículas sólidas dissolvendo os componentes extraíveis. O solvente é alimentado no extrator e uniformemente distribuído no interior do leito fixo. A mistura de solvente e componentes extraídos deixa o extrator e passa para o separador [BRUNNER, 1994]. No separador, a pressão da solução é reduzida, acarretando na vaporização do solvente, o qual poderá ser recirculado, e na precipitação do soluto, o qual será coletado e analisado

[SOVOVÁ, 2005]. BRUNNER [1994] afirma que, durante a extração dos compostos solúveis de matrizes vegetais, algumas etapas paralelas e consecutivas ocorrem:

- A matriz vegetal absorve o solvente supercrítico e/ou outros fluidos deliberadamente adicionados no processo de extração e a estrutura celular intumesce facilitando assim o transporte de massa.
- Em paralelo, os compostos extraídos são dissolvidos pelo solvente. Uma reação química pode ocorrer antes da solvatação;
- Os compostos dissolvidos são transportados até a superfície do sólido. Nesse caso, a difusão é o mecanismo de transporte mais importante;
- Os compostos dissolvidos atingem a superfície externa podendo ocorrer neste instante mudança de fase;
- Os compostos presentes na camada da superfície são transportados pelo solvente supercrítico;
- Por fim, ocorre a separação do extrato do solvente.

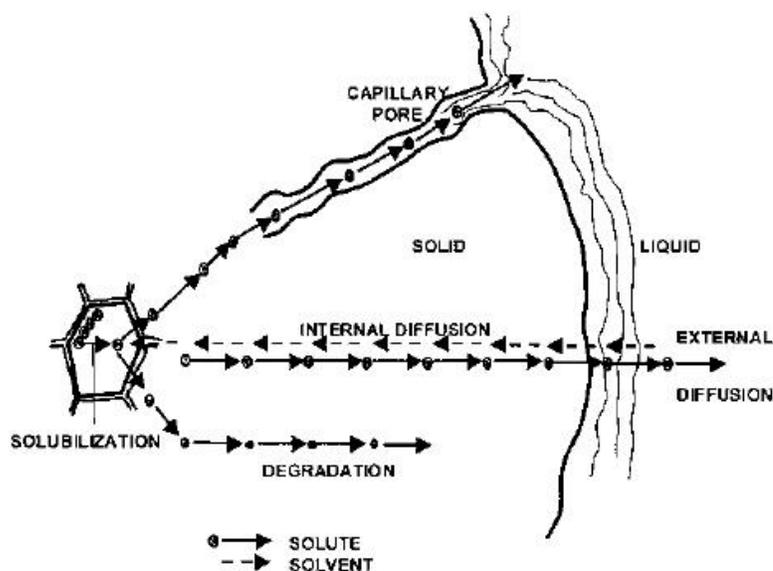


Figura 3.5 - Esquema gráfico das principais etapas do processo de extração sólido-líquido de matrizes vegetais [adaptado de TZIA & LIADAKIS, 2003].

Etapas da SFE de Solutos de Matrizes Vegetais

O processo de SFE é muito simples e o diagrama de operação é apresentado na Figura 3.6 a seguir. De forma geral, segundo **QUISPE-CONDORI et al. [2005]**, a SFE opera da seguinte forma:

- i. No extrator (E), o leito fixo é formado por partículas da matriz vegetal (sementes, folhas, frutos, flores, etc). A matéria-prima deve ter entre 10 a 18% (b.u. – base úmida) de água [**MEIRELES, 2003**];
- ii. O solvente é alimentado no extrator por meio de um compressor ou bomba (B) para alcançar a pressão de extração [**BRUNNER, 1994**]. Logo o solvente e o extrator são aquecidos até a temperatura de extração desejada. Um sistema para adição de co-solvente pode ser incorporado;
- iii. Atingidas as condições de processo, as válvulas de redução de pressão são abertas para permitir o fluxo do solvente ao longo do leito, com a conseqüente extração do extrato. Para evitar o congelamento das válvulas, devido ao efeito Joule-Thompson, um sistema de aquecimento é necessário;
- iv. A separação da mistura Extrato + CO₂ acontece no separador (S). Na temperatura e pressão reduzidas, o extrato precipita no separador, enquanto que o solvente livre ou com baixo teor de extrato é recirculado no sistema com estágios prévios de resfriamento e compressão. Para extração em pequena escala, a coleta pode ser realizada a pressão atmosférica e o solvente pode ser descartado ao ambiente. Em um processo de escala maior, o fluido que deixa o dispositivo de coleta será resfriado para recirculação e a coleta deve ser realizada em condições que diminuam os custos de recompressão do solvente [**BRUNNER, 1994**].

Nos estágios nos quais a matriz vegetal, extrato e solvente entram em contato podem ser divididos em duas etapas: etapa de extração, onde o sistema é formado pelo sistema ternário (matriz vegetal + extrato + CO₂); e etapa de remoção do solvente, na

qual considera-se a interação extrato + CO₂. Na etapa de extração, a temperatura e a pressão são selecionadas para maximizar o rendimento dos compostos de interesse, enquanto que na etapa de separação o nível de solubilidade é reduzido com o objetivo de assegurar a precipitação do extrato e reciclagem do CO₂.

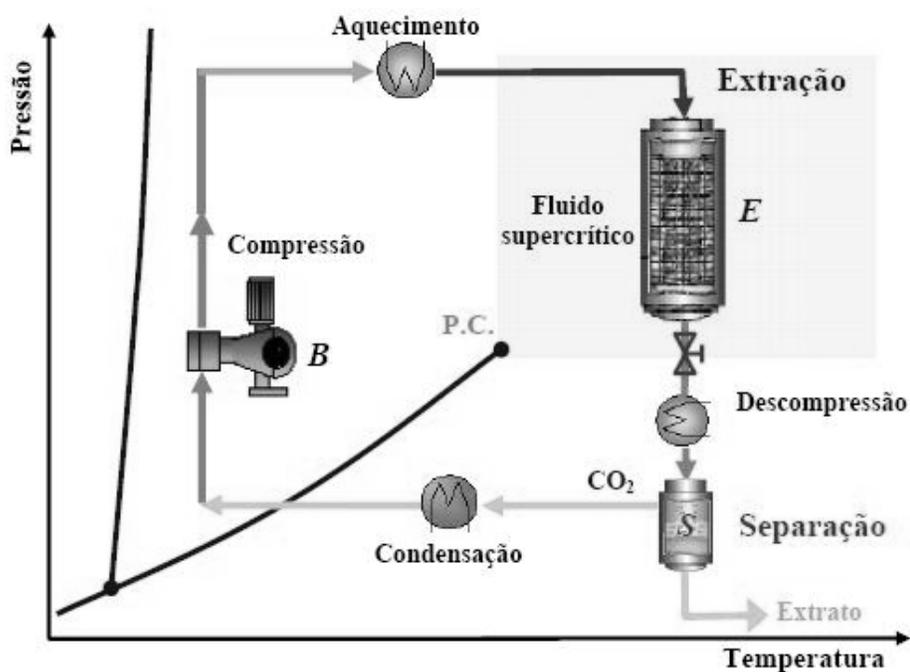


Figura 3.6 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico (SFE) [QUISPE-CONDORI, 2005].

Curvas Globais de Extração (OEC)

De acordo com **QUISPE-CONDORI [2005]**, a taxa de obtenção de extrato não é uma função linear do tempo. Dessa maneira, diversos comportamentos podem ser observados os quais dependem das formas típicas de variação do grau de extração ($w(t)$) e da taxa de extrato ($\Delta m_{\text{extrato}}/\Delta t$) com o tempo ou massa de solvente. A representação de $w(t)$ e $\Delta m_{\text{extrato}}/\Delta t$ em função do tempo ou massa de solvente utilizada na extração permite construir as conhecidas curvas globais de extração (OEC). De forma geral, dois tipos de OEC são observados na literatura os quais estão esquematizados nas Figura 3.7 e Figura 3.8a seguir.

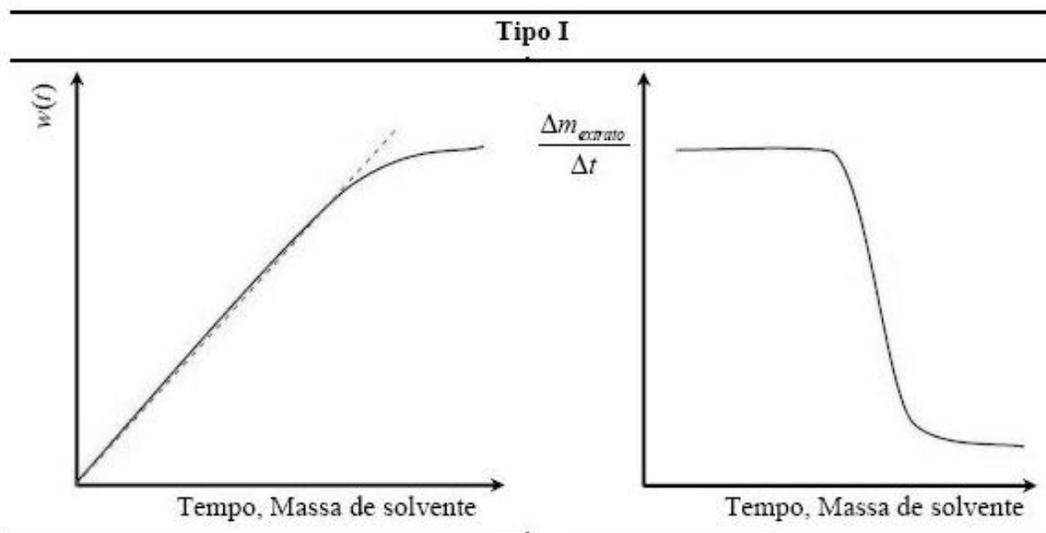


Figura 3.7 - Forma tipo I de curvas globais de extração (OEC) [adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994].

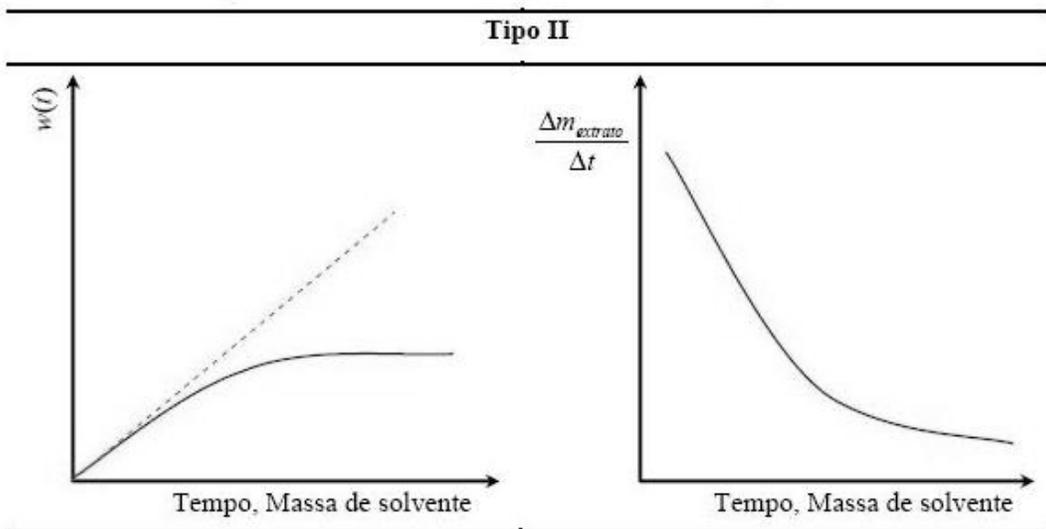


Figura 3.8 - Forma tipo II de curvas globais de extração (OEC) [adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994].

De acordo com a Figura 3.7, pode-se observar que as curvas globais de extração do tipo I representam a extração a partir de uma matriz vegetal com alto teor inicial de extrato e/ou de fácil acesso ao solvente. Uma situação de regime permanente se desenvolve no início, com valor constante de $\Delta m_{\text{extrato}}/\Delta t$, seguida por um período de

regime transiente onde a taxa de extração diminui com o tempo. No segundo tipo (Figura 3.8), não há um período inicial diferenciado da taxa de extração constante, prevalecendo o regime transiente desde o início da extração com $\Delta m_{\text{extrato}}/\Delta t$ diminuindo progressivamente com o tempo. Este tipo de curva representa a extração de substratos com baixo teor de extrato e/ou de difícil acesso ao solvente [QUISPE-CONDORI, 2005].

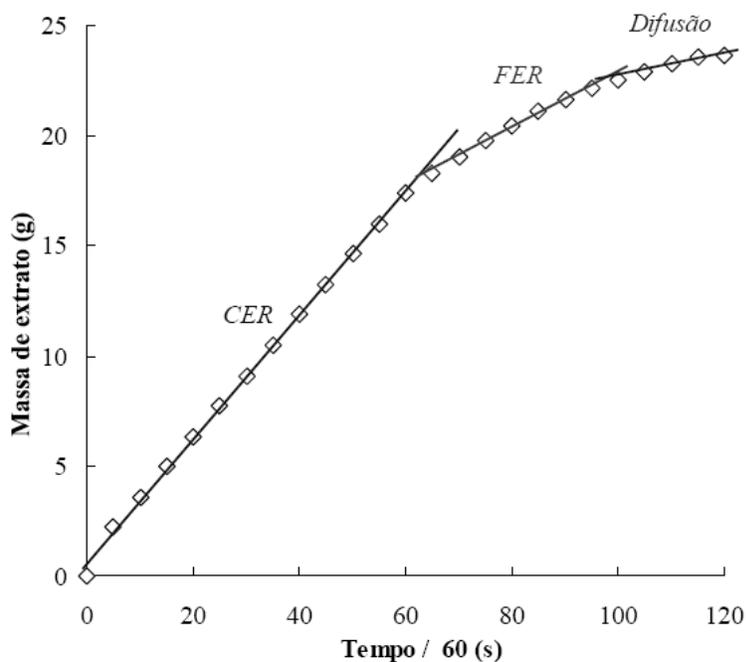


Figura 3.9 - Curva de extração do cravo-da-Índia [adaptado de RODRIGUES et al., 2002].

O estudo das OEC ajuda a definir os parâmetros cinéticos do processo os quais fornecem informações importantes relativas ao dimensionamento industrial de uma unidade de extração com fluido supercrítico [VASCONCELLOS, 2007; QUISPE-CONDORI et al, 2005]. O gráfico esquematizado na Figura 3.9 mostra o comportamento típico de um processo de extração com fluido supercrítico.

BRAGA [2005], QUISPE-CONDORI et al. [2005] e VASCONCELLOS [2007], indicam que as curvas globais de extração podem ser divididas em três regiões distintas:

- Na primeira etapa, denominada de período de taxa constante de extração (CER - *Constant Extraction Rate*), o soluto encontra-se presente em grande quantidade na superfície das partículas da matriz. Nesse caso, o processo de transferência de massa é controlado pela convecção, ou seja, pelo escoamento do solvente. Em geral, esse período pode ser caracterizado pelos seguintes parâmetros: t_{CER} (duração do período CER, s); Y_{CER} (razão mássica de soluto na fase supercrítica na saída do leito); M_{CER} (taxa de transferência de massa, kg/s) e R_{CER} (rendimento do período CER);
- No período de taxa de extração decrescente (FER - *Falling Extraction Rate*), a camada de soluto facilmente acessível na superfície das partículas está se exaurindo. Uma vez que nem todas as partículas encontram-se revestidas pelo soluto, a taxa de transferência de massa decresce rapidamente devido a diminuição da área efetiva de transferência de massa. Nessa fase, a resistência à transferência de massa encontra-se em ambas as fases sólida e fluida e tanto os processos de difusão quanto os de convecção passam a ser importantes na extração;
- No período de taxa de extração controlada pela difusão (DC - *Diffusion Controlled*), caracterizado pela ausência de soluto facilmente acessível na superfície das partículas, a taxa de extração é determinada apenas pela difusão do solvente para o interior das partículas sólidas, seguida da difusão da mistura soluto/solvente para a superfície das partículas.

3.6.1 Extração Supercrítica de Óleos e Gorduras

Nas últimas décadas verifica-se um grande número de trabalhos de pesquisa na área de extração e modificação de óleos e gorduras com fluidos supercríticos, fato este corroborado pelo levantamento bibliográfico realizado por **EGGERS [1996]** no qual são

apresentados 52 trabalhos realizados em extração e beneficiamento de óleos vegetais no período compreendido entre 1979 e 1991. Dessa maneira, é possível afirmar que há um grande interesse na aplicação da tecnologia supercrítica em processos extrativos de óleos e gorduras. Isso se deve, principalmente, devido às restrições de regulamentação, cuidados com a saúde e meio ambiente impostas pelos processos de extração convencionais. Conforme estes resultados, pode-se verificar que a extração com fluido supercrítico consiste em uma técnica alternativa comparada as técnicas convencionais de produção e modificação de óleos e gorduras.

EGGERS [1996] compilou uma série de trabalhos sobre a extração supercrítica de oleaginosas. O autor constata os resultados obtidos por **FRIENDRICH et al. [1984]** em relação aos efeitos da umidade, pressão e temperatura, e sugere otimizar a vazão mássica do solvente a fim de reduzir o tempo de permanência do solvente no extrator e, por conseguinte, reduzir o tempo de operação. A pressões inferiores a 350 bar a extração é favorecida a menores temperaturas; porém, a pressões maiores, um aumento na temperatura aumenta a solubilidade, visto que a pressão de vapor dos triglicerídeos passa a ter maior influência que a redução na densidade do solvente, juntamente com as características viscosas. O comportamento retrógrado observado para uma determinada faixa de pressão é similar ao encontrado para outros sistemas [**McHUGH & KRUKONIS, 1994**]. Com base nos trabalhos citados pode-se verificar que a temperatura, pressão e tamanho das partículas exercem grande influência nas taxas de extração de óleos e gorduras. A vazão do solvente por sua vez pode limitar a transferência de massa quando se utiliza valores muito altos, pois o equilíbrio termodinâmico não é atingido e o solvente deixa o extrator sem estar saturado com o soluto, além da possibilidade de formação de caminhos preferenciais, que resulta em perda de eficiência na transferência de massa. Dentro da faixa de vazão onde não há limitação de transferência de massa, só há sentido elevar a vazão na região de solubilidade. Na região controlada pela difusão intra-partícula

não é observada nenhuma vantagem em relação à quantidade total de massa extraída nas mesmas condições de pressão e temperatura.

Assim, a extração com dióxido de carbono supercrítico de óleos e gorduras tem se constituído um processo extrativo com grande viabilidade quando comparado aos processos de extração convencionais; pois, constitui uma tecnologia verde para a obtenção de extratos de alta qualidade e com altos rendimentos, possuindo ainda a vantagem adicional de eliminar algumas etapas de refino comuns aos processos convencionais, como a desodorização e a clarificação, por exemplo **[AZEVEDO et al., 2003]**. Dessa maneira, conforme citado, diversos pesquisadores têm demonstrado a crescente substituição dos processos extrativos convencionais pela tecnologia supercrítica como processo extrativo de óleos e gorduras de uma grande variedade de matrizes o que foi corroborado recentemente através da inclusão da SFE dentre as metodologias da AOAC **[AOAC, 2000]** para a extração de lipídios a partir de sementes oleaginosas **[AKOH & MIN, 2007]**.

3.7 ANÁLISE DE CUSTOS

Apesar de ser um processo de extração que já teve suas vantagens tecnológicas largamente comprovadas, a extração com fluido supercrítico ainda não é uma tecnologia amplamente difundida, uma vez que o processo está comumente associado a altos custos de manufatura. Entretanto, ainda não existe um modelo simples de avaliação técnico-econômica do processo industrial de extração com fluido no estado supercrítico **[ROSA & MEIRELES, 2005]**.

ROSA & MEIRELES [2005] apresentaram uma metodologia simplificada para determinar os custos de manufatura de extratos obtidos por tecnologia supercrítica. Esses autores aplicaram o modelo de **TURTON et al. [1998]** no qual o custo de manufatura é composto pelo investimento, custo de mão-de-obra operacional, custo de

utilidades, custo de tratamento de resíduos e custo da matéria-prima. Para cada componente do custo é definido um fator de ponderação, conforme a equação abaixo:

$$COM = 0,304FCI + 2,73COL + 1,23x(CUT + CWT + CRM)$$

Onde:

COM = custo de manufatura (\$)

FCI = fração de investimento em base anual (\$)

COL = custo de mão-de-obra operacional (\$)

CUT = custo das utilidades (\$)

CWT = custo de tratamento de resíduo (\$)

CRM = custo de matéria-prima (\$)

A fração de investimento é determinada pela multiplicação do total de investimento na planta de extração pela taxa de depreciação anual. O investimento para o preenchimento inicial da tubulação com dióxido de carbono pode ser desprezado [ROSA & MEIRELES, 2005]. ROSA & MEIRELES [2005] estimaram o custo de energia elétrica utilizando o diagrama de temperatura-entropia (T-S) do dióxido de carbono puro envolvido no ciclo do solvente. O custo da matéria-prima é composto pelo custo da matriz de onde o extrato será extraído, todo o custo de pré-processamento da matriz (como secagem, limpeza, moagem e classificação), além do custo do fluido perdido durante o processo. Segundo ROSA & MEIRELES [2005], é possível desprezar o custo de tratamento de resíduos, uma vez que os únicos resíduos do processo são o dióxido de carbono e a matriz sólida. O dióxido de carbono não necessita de tratamento para ser reciclado e a matriz, por ser geralmente, de uma fonte vegetal, pode ser diretamente incorporada ao solo (em alguns casos, a sobra de matriz pode ter valor comercial). ROSA & MEIRELES [2005] consideraram que o rendimento de extrato e o tempo de extração

determinados em laboratório podem ser considerados semelhantes aos obtidos em escala industrial se forem mantidos constantes o tamanho de partículas, densidade do leite e relação entre a massa da matriz sólida e a vazão de dióxido de carbono.

Os simuladores de processos consistem em uma importante ferramenta no desenvolvimento, avaliação e aumento de escala de bioprocessos e na modelagem e predição dos custos de produção, pois oferecem a oportunidade de desenvolvimento de processos a um curto tempo, permitindo a comparação de processos alternativos em uma consistente base de dados de forma que um grande número de processos podem ser sintetizados e analisados interativamente. Além disso, a simulação de processos integrados também permite o estudo das interações que existem entre processos *upstream* e *downstream* [KWIATKOWSKI, 2006]. TAKEUSHI *et al.* [2008] utilizaram o simulador SuperPro Design® 6.0 para estimar os custos de manufatura (COM) do óleo de cravo-da-índia, baseado na expressão proposta por TURTON *et al.* [1998], e avaliaram o impacto das condições reais de separação no tanque *flash*, sob várias condições de pressão e temperatura, concluindo que o simulador é uma importante ferramenta para a comunicação entre a comunidade científica e o setor industrial.

Diante disso, para uma análise da viabilidade econômica e da aplicação industrial da tecnologia supercrítica, faz-se necessário o estudo das condições de otimização do processo; a determinação da composição química do extrato e de suas propriedades funcionais; a estimativa dos custos de manufatura do processo; e a escolha da mais vantajosa fonte do composto de interesse a qual dependerá da composição desejada do extrato vegetal [MEIRELES, 2003; ROSA & MEIRELES, 2005]

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matéria-Prima

A matéria-prima foi cedida pela Croda do Brasil Ltda e consistiu em dois sacos de polietileno, cada um contendo 1 kg de torta desengordurada de cupuaçu (TCPU) obtida como resíduo do processo de prensagem convencional.

As amostras, ao serem recebidas no LASEFI, foram acondicionadas em saco de polietileno e armazenadas a -18°C em freezer doméstico (Metalfrio, DA420, São Paulo, São Paulo).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo e Caracterização da Matéria-Prima

4.2.1.1 Moagem

A matéria-prima foi moída em moinho de facas (Marconi, modelo MA340, série 0204244, Piracicaba, São Paulo). A moagem foi realizada em bateladas de 0,05 kg com um tempo médio de 10 segundos cada.

4.2.1.2 Determinação da granulometria

O material moído foi peneirado em peneiras da série padrão Tyler de 12 a 80 mesh (W.S. Tyler, Wheeling, EUA) e posicionadas no sistema vibratório do tipo magnético (Bertel, Piracicaba, São Paulo) por 15 minutos em nível 10, até completa separação das partículas. As massas retidas em cada peneira foram medidas em balança semi-analítica (Marte, série AS2000, $\pm 0,01g$, Artlab, São Paulo, São Paulo). As partículas trituradas foram acondicionadas em sacos plásticos, submetidas a vácuo, e

armazenadas em freezer doméstico (Brastemp, Modelo Frostfree, São Paulo, São Paulo) em temperatura inferior a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. A granulometria da TCPU utilizada para o empacotamento da célula extratora foi de 16 a 48 mesh.

O diâmetro médio de Sauter (d_{32}) foi utilizado para caracterizar o tamanho das partículas (Equação 4.1). Os parâmetros variáveis são: m_i (massa de material retido na i -ésima peneira, kg) e d_i (abertura nominal da i -ésima peneira, m)

$$d_{32} = \frac{\sum_{i=1}^n m_i \cdot d_i^3}{\sum_{i=1}^n m_i \cdot d_i^2} \quad 4.1$$

4.2.1.3 Densidade aparente, densidade real e porosidade do leito

A densidade aparente (ρ_a) do leito foi calculada dividindo-se a massa de matéria-prima utilizada para empacotar o leito pelo volume do leito no extrator. A densidade real (ρ_r) das partículas foi determinada por picnometria com gás hélio na Central Analítica do Instituto de Química da Unicamp. A porosidade do leito com as partículas (ε) foi determinada por cálculo através da densidade aparente e da densidade real das partículas (Equação 4.2).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad 4.2$$

4.2.1.4 Umidade

Pesou-se 5 g de amostra em um cadinho previamente tarado. Posteriormente, o cadinho juntamente com a amostra foi colocado em estufa (ver Figura 4.1) à $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ (estufa de secagem, modelo TE 395-1, Tecnal, São Paulo, São Paulo) e teve sua massa mensurada até valor constante segundo método 985.14 [AOAC, 1997; método 931.04].



Figura 4.1 - Estufa à vácuo utilizada para a determinação da umidade.

4.2.1.5 Análise da composição centesimal

A determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) foi realizada pela incineração em mufla (ver Figura 4.2) (tipo Microprocessado, modelo F1-DM, São Paulo, São Paulo) à 550°C [AOAC, 1997; método 972.15]. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl, utilizando fator de 6,25 para conversão do nitrogênio em proteína [AOAC, 1997; método 970.22].



Figura 4.2 - Mufla utilizada para a determinação do teor de cinzas.

Os lipídios totais foram determinados com extração da fração etérea por fluxo intermitente, utilizando éter de petróleo como solvente sob refluxo em aparelho de Soxhlet [AOAC, 1997; método 963.15].

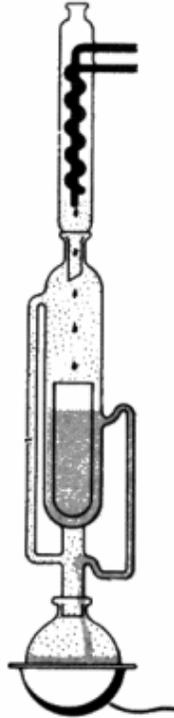


Figura 4.3 - Aparelho de Soxhlet utilizado na determinação do teor de lipídeos.

O teor de fibras totais foi realizado através do método ADF (*Acid Detergent Fibre*), segundo metodologia de **GOERING & VAN SOEST [1970]**. Os carboidratos foram determinados por diferença. O valor energético total (VET) foi calculado considerando-se os fatores de conversão de 4 kcal/g de proteína, 4 kcal/g de carboidrato e 9 kcal/g de lipídio, conforme **KALIL [1975]** e **PASSMORE et al. [1975]**.

4.2.2 Extração com Dióxido de Carbono Supercrítico

4.2.2.1 Unidade de Extração Supercrítica

As extrações foram realizadas na unidade Spe-ed SFE equipada com bomba pneumática, unidade controladora de temperatura e rotâmetro (Applied Separations, Inc., model 7071, Allentown, PA, EUA); compressor (SHULZ S/A, modelo MS 3, Joinville, Santa Catarina), banho de resfriamento ultratermostático (Marconi, modelo MA184,

Piracicaba, São Paulo); cilindro de CO₂ (99% pureza, Gama Gases Especiais, Campinas, São Paulo); e totalímetro (LAO G0,6, São Paulo, São Paulo) apresentados na Figura 4.4 abaixo.

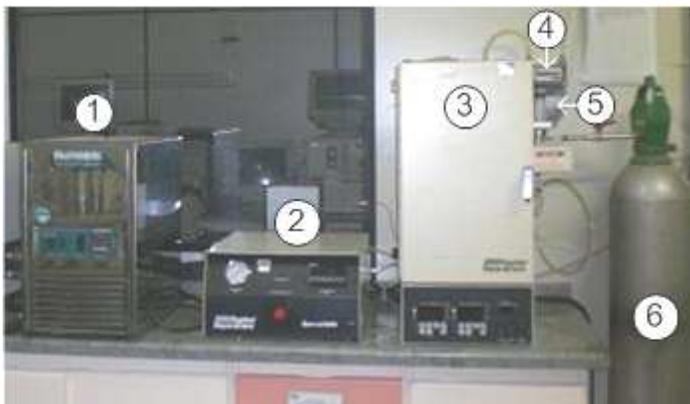


Figura 4.4 - Spe-ed SFE: (1). Banho de resfriamento; (2). Bomba pneumática; (3). Unidade controladora de temperatura; (4). Totalímetro; (5). Rotâmetro; (6). Cilindro de CO₂.

A célula de extração (Thar Designs, CL 1373, Pittsburg, EUA) utilizada na unidade Spe-ed SFE está apresentada na Figura 4.5. O leito de extração (1) possui 5,42 cm de diâmetro e 12,54 cm de altura, totalizando volume de leito de 290 mL:



Figura 4.5 - Célula de extração de 290mL (Thar Designs, CL 1373, Pittsburg, EUA).

4.2.2.2 Procedimento Operacional

O processo de extração com fluido supercrítico da unidade Spe-ed SFE é apresentado na Figura 4.6. O processo tem início quando o CO₂ sai do cilindro (C-CO₂) em direção ao banho ultratermostático (BT), que contém uma solução de etileno glicol e água a -10°C para resfriar o solvente assegurando que o mesmo alcance a bomba na

fase líquida. Na bomba (BB), o solvente líquido é comprimido até a pressão de operação e transportado para dentro da célula de extração (CE), onde se encontra a matéria-prima. A célula de extração está acoplada dentro do forno (F) com a temperatura de operação controlada por um termopar. O solvente fluido atravessa a matéria-prima extraindo os compostos solúveis e quando atinge a válvula de expansão (V4) tem sua pressão reduzida até pressão ambiente voltando à fase gasosa. Os compostos solúveis no solvente fluido precipitam no frasco coletor (FC) e o solvente na fase gasosa passa por um rotâmetro (RT) e depois por um totalímetro (TT), onde tem sua vazão controlada, e é liberado no ambiente.

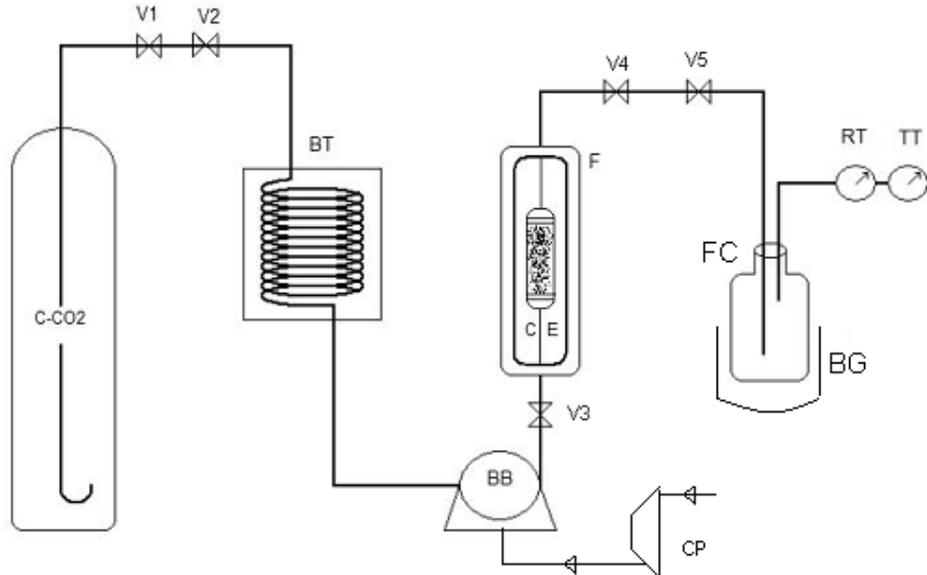


Figura 4.6 - Fluxograma da unidade experimental Spe-ed SFE [adaptado de VASCOCELLOS, 2007].

O procedimento operacional da unidade foi padrão para as todas as extrações:

1. Ligou-se o banho de resfriamento (BT) e esperou-se alcançar a temperatura entre -5 e -10°C;
2. Verificou-se se todas as válvulas (V1, V2, V3 e V4) estavam fechadas e ligou-se o Spe-ed SFE e o compressor (CP);

3. Conectou-se a linha de saída do CO₂ no frasco de coleta (FC), previamente tarado, e depois se conectou o frasco de coleta (FC) na linha de saída de CO₂ + extrato;
4. Abriam-se as válvulas do cilindro de CO₂ (V1) e de segurança (V2);
5. Ligou-se a bomba de pressurização do CO₂ (BB);
6. Conectou-se a célula de extração (CE), com a matéria-prima empacotada, no forno (F) e prendeu-se o termopar em sua superfície;
7. Abriu-se lentamente a válvula de entrada de CO₂ (V3) para pressurização do sistema com a pressão existente no cilindro de CO₂ (C-CO₂);
8. Verificou-se que não havia vazamento, nem na célula de extração (CE) nem na linha do sistema;
9. Regulou-se vagarosamente a pressão na bomba (BB) até a pressão de operação e verificou-se novamente se não havia vazamento;
10. Configurou-se a temperatura do forno (F) para a temperatura de operação e a temperatura da válvula micrométrica (V5) para 80°C e ligaram-se os botões de temperatura do forno (F);
11. Ajustou-se a pressão de operação (após alcance das temperaturas de operação) na bomba (BB);
12. Esperou-se 10 minutos para a estabilização do sistema;
13. Colocou-se o frasco de coleta (FC) em banho de gelo (BG) onde foi mantido parcialmente imerso para evitar degradação do extrato durante a extração;
14. Abriu-se vagarosamente a válvula de saída de CO₂+extrato (V4) para iniciar a extração;
15. Ajustou-se a vazão do CO₂ através da válvula micrométrica (V5) que foi mantida constante durante o período de extração e medida pelo rotâmetro (RT) e pelo totalímetro (TT);
16. Após o tempo pré-estabelecido de extração, fechou-se a válvula de saída de CO₂+extrato (V4) e fechou-se a válvula de entrada de CO₂ (V3);

17. Diminuiu-se a pressão da bomba (BB) até pressão do cilindro de CO₂ (C-CO₂) e desligaram-se os botões de temperatura do forno (F) e da válvula micrométrica (V5);
18. Retirou-se o frasco de coleta (FC) de extrato e o banho gelo (BG) e acoplou-se o frasco de coleta de limpeza, previamente tarado;
19. Abriu-se vagarosamente a válvula de saída de CO₂+extrato (V4) para a total despressurização do sistema;
20. Desconectou-se a célula de extração (CE) das linhas e lavou-se, com auxílio de seringa, a linha de saída de CO₂+extrato com 10mL álcool etílico, coletando-se no mesmo frasco da despressurização;
21. Após o procedimento de limpeza, retirou-se o frasco de coleta de limpeza;
22. Acoplou-se outra célula de extração no forno (F) e abriu-se a válvula de entrada (v3) de CO₂, para que fosse passada, na linha, corrente de CO₂ para retirada total de resíduo de solvente;
23. Desconectou-se a célula, usada para limpeza, da linha; desligou-se o Spe-ed (F), o banho ultratermostático (BT) e compressor (CP).

A vazão do solvente foi monitorada com o auxílio do totalímetro que mede o volume de CO₂ (m³) nas condições ambientes de temperatura e pressão. Estas condições foram registradas com termômetro de mercúrio (PolyScience, EUA) e manômetro (modelo 104, Veb Feingeratebau 9362 Drebach/ERZC GDR, Alemanha), e serviram como dados de entrada no programa de dados de referência padrão do **NIST - National Institute of Standards and Technology [2005]**, base de dados nº 69 publicada em junho de 2005 (<http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid>), que disponibiliza as propriedades termofísicas de sistemas fluidos, onde se obteve a densidade do CO₂ nas condições ambientes. Com a densidade, a vazão volumétrica foi convertida em vazão mássica de CO₂ (kg/s), sendo possível determinar a massa de CO₂ utilizada em cada experimento de extração.

4.2.2.3 Preparo do leito de extração

O preparo do leito seguiu o procedimento padrão para todas as extrações: com uma das extremidades da célula fechada, depositou-se uma camada de lã de vidro em sua base; acrescentou-se aos poucos a matéria-prima moída (cerca de 20g) empacotando-a com o auxílio de um bastão cilíndrico de aço inox, para evitar a formação de caminhos preferenciais; posteriormente, depositou-se outra camada de lã de vidro por cima da matéria-prima e adicionaram-se esferas de vidro em quantidade suficiente para preencher todo o volume restante do extrator, fechando-se a célula em seguida. A célula de extração é então invertida de forma que as esferas de vidro situem-se na porção inferior da célula e a matriz sólida na porção superior, de maneira que o fluxo de extração ocorre de baixo para cima, como mostra Figura 4.7 abaixo.

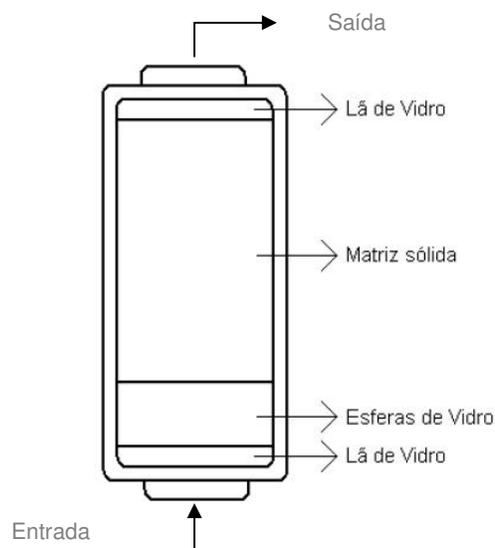


Figura 4.7 - Empacotamento do leito da célula de 290 mL [VASCONCELLOS, 2007].

A densidade do leito foi mantida constante. A lã de vidro serve como um filtro para evitar a passagem de partículas que possam causar obstrução da linha. As esferas de vidro têm a finalidade de promover o total preenchimento da célula extratora, bem como a estabilidade do fluxo de CO_2 dentro da célula de extração. Na célula de 290 mL,

preencheu-se aproximadamente 1/3 do volume do leito com cerca de 20g de TCPU, onde o volume restante foi preenchido com esferas de vidro.

4.2.3 Determinação do Rendimento Global (X_0)

Os experimentos para a determinação do rendimento global foram realizados na célula de 290 mL, segundo metodologia apresentada por **CARVALHO Jr. [2004]** e **MOURA [2004]** apresentada na Figura 4.5, Seção 4.2.2.1. Foram realizadas extrações em duas temperaturas e cinco pressões totalizando dez ensaios que foram replicados. O tempo de processo de extração e a razão (S/F) entre a massa de CO₂ (S) e a massa de matéria-prima (F) alimentada na célula foram mantidos constantes. Os parâmetros utilizados nas extrações estão apresentados na Tabela 4.1:

Tabela 4.1 Parâmetros operacionais adotados para a determinação das isotermas de rendimento global (*Global Yield Isotherms* - GYI).

Parâmetros					
S/F (kg CO ₂ /kg M.P.)	50				
Q _{CO₂} (kg/s)	11,5.10 ⁻⁵				
Temperatura (°C)	50	70			
Pressão (bar):	200	250	300	350	400

O procedimento padrão de operação da unidade *Spe-ed* SFE foi adotado para a determinação do rendimento global. Após o fim da extração, os frascos de coleta de extrato foram deixados por 10 minutos na capela para garantir que todo o CO₂ fosse volatilizado do extrato e o frasco de coleta de limpeza foi acoplado em rota evaporador (Laborota 4001 WB, Heidolph e CH-9230, Buchi, Flawil, Suíça) com bomba de vácuo (Rotovac Control, Heidolph, Instruments, GMBH, Viertrieb, Alemanha) à temperatura de

40°C e à pressão de 11 kPa, para remover totalmente o álcool etílico empregado na limpeza da linha de saída de CO₂ + Extrato. As massas de extratos contidas nos frascos foram medidas usando balança analítica (Sartorius analytic A200S, ± 0,0001, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha).

O rendimento global (X_0) foi calculado relacionando a massa total ($M_{extrato}$) de extrato e a massa de alimentação de matéria-prima em base seca ($M_{amostra}$), de acordo com a Equação 4.3:

$$X_0 = \left(\frac{M_{extrato}}{M_{amostra}} \right) \times 100 \quad 4.3$$

Ao final das extrações com todas as condições de temperatura e pressão, as isotermas de rendimento global (GYI - *Global Yield Isotherms*) foram apresentadas em gráficos a fim de se observar o comportamento do rendimento global do extrato em diferentes condições de temperatura e pressão.

A condição que proporcionou maior rendimento global foi determinada através de uma análise estatística dos resultados utilizando a análise de variância com o auxílio do *software* MINITAB® [Release 14.12.0, Minitab Inc.].

4.2.4 Parâmetros Cinéticos

Os experimentos para a determinação da cinética de extração foram realizados na célula de 290 mL apresentada na Figura 4.5, Seção 4.2.2.1. A condição de temperatura e pressão de extração adotada foi a que se obteve o melhor rendimento global. O ensaio cinético foi realizado até que não se observasse mais saída de extrato no frasco coletor.

O procedimento padrão de operação da unidade *Spe-ed* SFE foi adotado para a determinação da cinética de extração. A célula de 290 mL foi acoplada no forno de forma que a parte preenchida com as esferas de vidro fosse deixada para baixo para que apenas o dióxido de carbono puro, que penetra na parte inferior da célula, percorresse as esferas, evitando a agregação de extrato nas mesmas. A cada 10 minutos de extração,

os frascos de coleta de extratos eram substituídos por outros limpos, e previamente tarados, até que não se percebesse mais a saída de extrato. Os frascos de coleta de extrato foram deixados por 30 minutos na capela para garantir que todo o CO_2 fosse volatilizado do extrato e o frasco de coleta de limpeza foi acoplado no rotaevaporador (Laborota 4001 WB, Heidolph e CH-9230, Buchi, Flawil, Suíça) com bomba de vácuo (Rotovac, Heidolph, Instruments, GMBH, Viertrieb, Alemanha) à temperatura de 40°C e à pressão de 11 kPa, para remover o etanol empregado na limpeza da linha de saída de CO_2 + Extrato. As massas de extratos contidas nos frascos foram medidas usando balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha). Ao final das cinéticas as curvas globais de extração (OEC) foram apresentadas em gráficos a fim de se observar o comportamento do sistema.

4.2.4.1 Cálculo dos parâmetros cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos, t_{CER} (duração do período de taxa constante de extração: CER); M_{CER} (taxa de transferência de massa do período CER, kg/s); Y_{CER} (razão mássica de extrato na saída do leite); e R_{CER} (rendimento do período da taxa constante de extração: CER), foi utilizado um aplicativo computacional que consiste em uma planilha de cálculo em Excel com uso da função PROJ.LIN que ajusta um *spline* linear de três retas às curva cinética de extração. Sucessivos valores do ponto de intersecção das três retas são avaliados a partir dos módulos em Visual Basic para Aplicação (VBA), maximizando o coeficiente de correlação das retas. A intersecção entre as duas primeiras retas determina o termino do período de taxa constante de extração (t_{CER}) e a intersecção entre a segunda e terceira reta determina o final do período de taxa decrescente de extração (t_{FER}), onde a partir deste ponto inicia-se a o período de extração difusional [SANTOS, 2007].

Os dados de entrada para o aplicativo são os dados experimentais obtidos das curvas globais de extração (OEC): a vazão de solvente, densidade do sólido e a massa inicial de alimentação. O programa gera um gráfico dinâmico plotado em termos da razão entre a massa de extrato e a massa inicial de alimentação *versus* a razão entre a massa de solvente e massa inicial de alimentação.

4.2.5 Composição dos Extratos

As análises de composição centesimal, fenóis totais, flavonóides totais e atividade antioxidante foram realizadas no LASEFI/DEA/FEA/UNICAMP. Análises de composição em ácidos graxos e teor de tocoferóis totais foram realizados no Laboratório de Óleos e Gorduras/DTA/FEA/UNICAMP, seguindo metodologia oficial da **AOCS - American Oil Chemists' Society [2004]**. Uma amostra de extrato de cada condição de temperatura e pressão foi selecionada aleatoriamente. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.5.1 Análise Qualitativa

O perfil de composição química dos extratos foi determinado qualitativamente através da técnica de adsorção por cromatografia em camada delgada (CCD), seguindo metodologia de **WAGNER & BLADT [1996]** com algumas modificações.

Material: cromatofolhas de alumínio com fase estacionária de sílica gel (CCF-C/25, sílica gel 60 F₂₅₄, Merk KGaA, Darmstadt, Alemanha); p-anisaldeído (CAS 123-125, Lote 116K3531, SIGMA, EUA); 2-aminoetil-difenilborinato (CAS 524-95-8, Lote 096K2612, SIGMA, EUA); luz ultravioleta (Multiband UV – 254-366 nm, modelo UVGL-58, Mineralight® Lamp, Upland, CA, EUA) equipada com gabinete (UVP-Chromato-VUE, modelo CC-10, Upland, CA, EUA); estufa à vácuo (Tecnal, modelo TE-385-1, Piracicaba, São Paulo); acetato de etila P.A.(Merck KGaA, Lote: K37251523, Darmstadt, Alemanha).

Procedimento: soluções dos extratos e dos padrões de referência foram preparadas com acetato de etila. Alíquotas das soluções dos extratos foram aplicadas nas cromatofolhas com auxílio de tubo capilar. Posteriormente, as cromatofolhas foram inseridas em cubas de vidro e eluídas com combinação de diferentes proporções de solventes orgânicos, para as fases móveis. A visualização das bandas geradas pelos compostos que não estavam na região do visível foi realizada através de luz ultravioleta de curto comprimento de onda, 254nm, e longo comprimento de onda, 366nm. Para compostos que não emitiram fluorescências em luz ultravioleta, a visualização das bandas foi realizada borrifando as placas com soluções de reagentes, que conferem cores aos compostos. A solução do revelador anisaldeído sulfúrico (AS) foi preparada adicionando em erlenmayer de 250 mL, 0,5 mL de p-anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, nesta ordem, pois a reação é intensa. A solução do revelador *Natural Products-Polyethylene Glycol* (NP/PG) [WAGNER & BLADT, 1996] foi preparada em erlenmayer de 250mL, onde adicionou-se 1g de 2-aminoetil-difenilborinato em 100 mL de metanol. Depois da revelação das cromatofolhas com os reagentes, as bandas dos compostos foram novamente visualizadas em luz ultravioleta. Para as placas borrifadas com p-anisaldeído, as bandas dos compostos foram visualizadas após aquecimento, em estufa a 100°C por 10 minutos, na região do visível e em luz ultravioleta.

4.2.5.2 Determinação dos Fenóis Totais

A concentração de fenóis totais nos extratos foi calculada baseada na curva padrão de ácido gálico, seguindo metodologia de **SINGLETON & ROSSI [1965]** com modificações de **CHEUNG et al. [2003]** e algumas alterações.

Material: reagente fenólico de Folin & Ciocalteu (Lote 23690, Diadema, São Paulo); solução saturada de carbonato de sódio anidro PA ACS (Na_2CO_3) (99,5%, Lote

16.999, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); álcool etílico ABS ACS (99,5%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); padrão de ácido gálico (Lote 023K01171, SIGMA, St Louis, MO, USA); balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); balança semi-analítica (Marte, série AS2000, $\pm 0,01$ g, Artlab, São Paulo, São Paulo); e espectrofotômetro (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento: a solução saturada (~50%) de carbonato de sódio (Na_2CO_3) foi produzida a cada ensaio realizado. Pesou-se em béquer previamente tarado em balança semi-analítica 25 g de Na_2CO_3 e diluiu-se em 50 mL de água destilada. A curva padrão de ácido gálico foi construída através de solução produzida com o auxílio de espátula de aço inoxidável, onde se pesou 0,0200 g de ácido gálico em balão volumétrico de fundo chato (100 mL) tarado em balança analítica. Diluiu-se até aferição com água destilada obtendo-se uma concentração de 0,2000 mg/mL. Ensaio preliminares de leitura da absorbância das diluições desta solução permitiram observar que a concentrações menores que 0,1000 mg/mL seria suficiente para se obter os dados de absorbância no intervalo de 0 a 1, onde a Lei de Beer é satisfeita. A partir desta solução, alíquotas foram diluídas em diferentes concentrações para a construção da curva padrão de ácido gálico. As soluções dos extratos, SFE e comercial, foram produzidas pesando-se aproximadamente 0,0200g de extrato, com auxílio de espátula de aço inoxidável apoiada em béquer, na balança analítica. Depositou-se esta massa em balão volumétrico de fundo chato (5 mL), diluiu-se com 0,5mL de álcool etílico, e aferiu-se com água destilada. A solução da reação foi preparada para cada solução de extrato, adicionando 1 mL da solução de extrato e 1 mL do reagente fenólico de Folin & Ciocalteu, em balão de fundo chato (10 mL) e homogeneizou-se. Depois de três minutos, adicionou-se 1 mL da solução saturada de carbonato de sódio e imediatamente aferiu-se com água destilada. Esta solução foi mantida no escuro por noventa minutos para que ocorresse a reação e,

posteriormente, as leituras das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda de 725 nm.

4.2.5.3 Determinação dos Flavonóides Totais

Os flavonóides totais foram determinados através do método colorimétrico desenvolvido por **ZHISHEN & WU [1999]**.

Material: Nitrito de sódio PA (NaNO_2) (99,9%, Lote 16.999, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); cloreto de alumínio PA (AlCl_3) (99,9%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); hidróxido de sódio PA (NaOH) (99,9%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); padrão de rutina (Lote 023K01171, SIGMA, St Louis, MO, USA); balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); balança semi-analítica (Marte, série AS2000, $\pm 0,01\text{g}$, Artlab, São Paulo, São Paulo); e espectrofotômetro (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento: Uma alíquota de 1 mL da amostra diluída e solução padrão foi adicionada a um balão volumétrico de 10 mL contendo 4 mL de água destilada. No tempo zero, 0,3 mL da solução NaNO_2 5% foi adicionado ao balão volumétrico. Após 5 minutos, 0,3 mL da solução AlCl_3 10% foi adicionada. Após 6 minutos, 2 mL da solução NaOH 1M foi adicionado a mistura. Imediatamente aferiu-se o balão com a adição de 2,4 mL de água destilada e a solução foi vigorosamente misturada. A absorvância da mistura foi determinada a 510 nm em espectrofotômetro. O teor de flavonóides foi expresso como equivalente de rutina. As amostras foram analisadas em triplicata.

4.2.5.4 Atividade Antioxidante por Co-oxidação β -Caroteno/Ácido Linoléico

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada através da reação acoplada de β -caroteno e ácido linoléico, segundo metodologia de **MARCO [1968]**, modificada por **MILLER [1971]**, que se baseia na observação colorimétrica da oxidação do β -caroteno em uma determinada emulsão.

Material: Clorofórmio PA ACS (99%, Lote 17408, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); ácido linoléico (99%, Lote 037K1045, SIGMA, Darmstadt, Alemanha); β -caroteno (95%, UV, Tipo I, SIGMA, St Louis, MO, EUA); Tween 40[®] (Lote 046K0128, SIGMA-ALBRICH, Darmstadt, Alemanha); água destilada em Destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); tubos Eppendorf (1,5 mL, Lote 05P1014501); balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); ultra-som (Ultra sonic clean, MaxiClean 1400, Unique, Indaiatuba, São Paulo); rotaevaporador (Laborota 4001 WB, Heidolph e CH-9230, Buchi, Flawil, Suíça); agitador de tubos (Phoenix, modelo AP56, Araraquara, São Paulo), banho termostático (Marconi, modelo MA127/BO, Piracicaba, São Paulo); e espectrofotômetro (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento: Na formação da emulsão adicionaram-se 1 mL de solução de β -caroteno dissolvido em clorofórmio (2 mg/mL), 20 mg de ácido linoléico e 200 mg de Tween 40[®]. Em seguida, a emulsão foi evaporada em rotaevaporador. Acrescentou-se, então, 50 mL de água destilada previamente oxigenada. Na determinação em tubos de ensaio foram tomados 2 mL da solução emulsionada e adicionados 80 μ L de extrato, BHT (20, 40, 60, 80 e 100 ppm). Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). Imediatamente após a adição da solução emulsionada foram realizadas as leituras no tempo zero (Abs_0) em espectrofotômetro a 470 nm. Em seguida, os tubos foram colocados em banho-maria a 50°C e, a cada intervalo de 15 minutos, por um período total de 120 minutos (Abs_t), foram

realizadas as leituras das absorvâncias. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição de oxidação, conforme cálculo expresso na fórmula a seguir:

$$\%Oxidação = \frac{\bar{X}(Abs_i^{am} - Abs_f^{am})^a \times 100}{\bar{X}(Abs_i^C - Abs_f^C)^b}$$

^a - Média da diferença das absorvâncias de cada amostra;

^b - Média da diferença das absorvâncias de cada controle.

^{am} - Amostra;

^C - Controle.

$\%Proteção = 100 - \%Oxidação$

O decaimento da densidade ótica do controle foi considerado como 100% de oxidação. A partir dessa relação o decréscimo na leitura da absorvância das amostras foi correlacionado com o controle estabelecendo, assim, o percentual de inibição da oxidação das amostras antioxidantes.

Estudo cinético da atividade antioxidante no sistema b-caroteno/ácido linoléico

Para verificar a eficiência estimada da ação antioxidante dos extratos e do BHT realizou-se uma avaliação a partir das tangentes (tg) de dois intervalos das curvas cinéticas, conforme descrito na Seção 3.3. Os valores de F1 e F2 foram calculados de acordo com a figura abaixo:

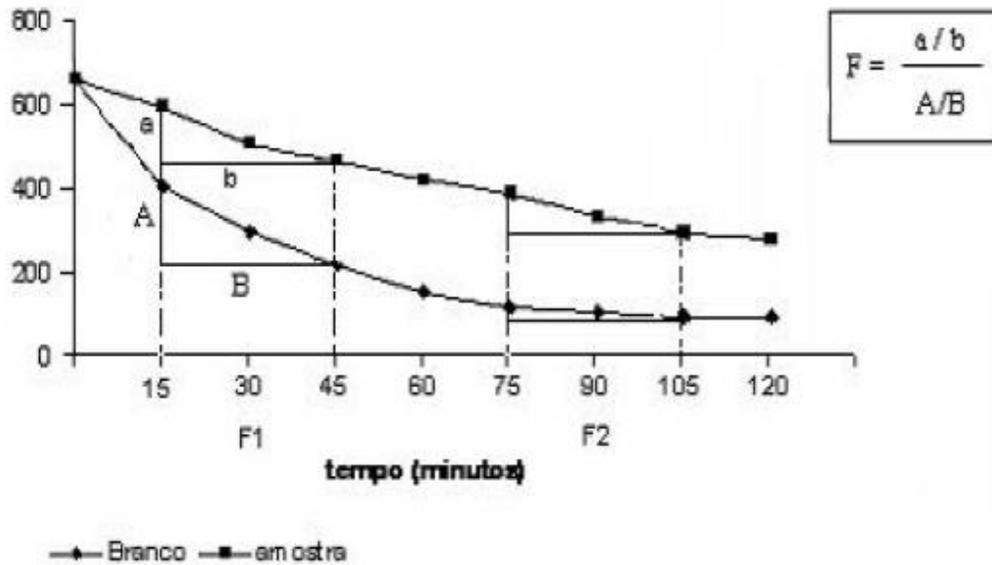


Figura 4.8 - Curva de decaimento da densidade óptica em sistema de co-oxidação – caroteno/ácido linoléico. A relação entre as tangentes representa os fatores cinéticos F1 e F2, nos quais, (a) e (A) são os catetos opostos, obtidos pela diferença das leituras das absorvâncias da amostra e do branco, respectivamente; (b) e (B) são os catetos adjacentes, obtidos pela diferença entre os tempos da amostra e do branco, respectivamente [adaptado de JARDINI & MANCINI-FILHO, 2007].

$$F1 = \frac{tg_{extrato}^{15:45}}{tg_{controle}^{15:45}} \quad (4.4)$$

$$F2 = \frac{tg_{extrato}^{75:105}}{tg_{controle}^{75:105}} \quad (4.5)$$

Onde:

$$F1 = \frac{tg_{extrato}^{15:45}}{tg_{controle}^{15:45}} - \text{razão entre a tangente do extrato e a tangente do controle no intervalo}$$

entre 15 e 45 minutos.

$$F2 = \frac{tg_{extrato}^{75:105}}{tg_{controle}^{75:105}} - \text{razão entre a tangente do extrato e a tangente do controle no intervalo}$$

entre 75 e 105 minutos

Quando a razão entre essas tangentes apresentarem valores inferiores a 1, o composto testado é tido como antioxidante; quando o valor for acima de 1, indica que o composto testado atua, provavelmente, como pró-oxidante.

4.2.5.5 Tocoferóis totais

A análise do teor de tocoferóis totais dos extratos foi realizada utilizando o **método Ce 8-89 AOCS [2004]** por cromatografia líquida de alta eficiência.

Material: sistema HPLC (Waters Corporation, Milford, Massachusetts, EUA) com Bomba Waters 515, coluna Hibar RT 250 x 4mm Li Chrosorb Si 60, 5µm (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), detector UV / Visível Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector, fase móvel com 99% de Hexano e 1% de Isopropanol com taxa de fluxo de 1,0 mL/min; e comprimento de onda de 292 nm; Interface Peak Simple Chromatography Data System (SRI Instruments Inc., modelo 202, Las Vegas, Nevada, EUA), o volume injetado foi de 20,0 µL.

Procedimento: Pesou-se aproximadamente 100 mg de extrato e depositou-se em balão volumétrico de fundo chato de 10 mL e aferiu-se com hexano. Alíquota desta solução foi injetada no cromatógrafo líquido de alta eficiência para a determinação de tocoferóis totais.

4.2.5.6 Ácidos Graxos

Os ácidos graxos dos extratos foram determinados seguindo o método Ce 1c-89 [AOCS, 2004]. Os ésteres metílicos foram preparados seguindo metodologia de **HARTMANN & LAGO [1973]**.

Material: Cromatógrafo Gasoso capilar (CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, Wilmington, Delaware, EUA) equipado com coluna capilar DB-23 AGILENT (US2201526H) (50% cianopropil) – metilpolisiloxano, dimensões 60 m, diâmetro interno:

0,25 mm, 0,25 µm filme. Programação com vazão de 1,00 mL/min.; velocidade linear de 24 cm/s; temperatura do detector em 280°C; temperatura do injetor em 250°C; temperatura do forno com rampa de 110°C por 5 minutos, 110°C à 215°C com taxa de 5°C/min, e 215°C por 24 minutos; utilizou-se hélio (Air Liquide Brasil, São Paulo, São Paulo) como gás de arraste; o volume injetado foi de 1,0 µL.

Procedimento: pesou-se, com auxílio de pipeta Pasteur, aproximadamente 60 mg de extrato em balança analítica e depositou-se em tubo de ensaio com tampa rosqueada. Adicionou-se 4 mL de reagente de saponificação (KOH 0,5M) e agitou-se até completa dissolução do extrato. Posteriormente, aqueceu-se a solução por 5 minutos e depois se resfriou em banho de gelo. Adicionou-se 5 mL de reagente de esterificação (solução metanólica de cloreto de amônia e ácido sulfúrico) e agitou-se. Novamente, aqueceu-se a solução por 5 minutos e depois se resfriou em banho de gelo. Adicionou-se 4 mL de solução saturada de NaCl e 5 mL de éter de petróleo. Agitou-se por 30 segundos e deixou-se em repouso até separação das fases. Alíquota da fase superior, onde estão os ésteres metílicos, foi transferida para *vials* de 1,5 mL e armazenados em freezer para posterior injeção no cromatógrafo.

4.2.6 Análise dos Custos

A estimativa dos custos de manufatura para a obtenção dos extratos supercríticos da torta desengordurada de cupuaçu foi realizada com o auxílio do *software* Tecanalysis® de acordo com a metodologia utilizada por **ROSA & MEIRELES [2005]**. Na estimativa dos custos fixos, foi considerada a utilização de duas colunas de extração de 400 L a um custo de US\$ 2.000.000. Foi considerada a utilização dos equipamentos por um período de 10 anos, ou seja, a taxa de depreciação anual considerada nos cálculos foi de 10%. Os custos variáveis de produção são basicamente compostos por quatro fatores: mão-de-obra operacional, matéria-prima, utilidades e transporte. Foi considerada

a produção de extrato por 330 dias por ano, 24 horas por dia, totalizando 7.920 horas/ano a um custo de US\$ 3,00/hora. O custo da matéria-prima considerada nos cálculos foi de US\$ 202,00/ tonelada métrica [IBGE, 1996]. O processamento da matéria-prima (moagem) teve seu custo estimado em US\$ 30,00/ tonelada métrica. As utilidades consideradas na estimativa de custos de manufatura do extrato supercrítico TCPU foram: dióxido de carbono perdido durante o processo, energia elétrica para a bomba, água de resfriamento para a refrigeração do condensador e vapor saturado. Foi considerada perda de 2% do dióxido de carbono utilizado em cada ciclo de extração a um custo de US\$ 0,10/kg. Os custos da energia elétrica utilizada no processo foi estimado considerando a compressão como sendo isoentrópica com eficiência de 60% a um valor de US\$ 0,0703/Mcal (SuperPro Design®, Demo version). O custo da água de resfriamento foi estimado em US\$ 0,0837/Mcal (SuperPro Design®, Demo version). Foi considerada a utilização de tanque *flash* a 50 bar, sendo o mesmo aquecido por vapor saturado a 0,5 MPa a um custo de US\$ 0,0133/Mcal (SuperPro Design®, Demo version). Não foram considerados custos com transportes, uma vez que considerou-se a planta extratora próxima à região produtora. Também não foram considerados custos de tratamento de resíduo, uma vez que o resíduo do processo não apresenta contaminação. Para o cálculo da vazão de dióxido de carbono no extrator foi considerado como critério de aumento de escala a manutenção da relação alimentação de dióxido de carbono/volume da célula com relação ao modelo experimental [ROSA & MEIRELES, 2005].

4.2.7 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa de estatística MINITAB® [Release 14.12.0, Minitab Inc.].

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Antes de se iniciar as medições com os instrumentos e equipamentos utilizados, identificaram-se os limites de precisão que poderiam ser obtidos. Para diminuir a incerteza do resultado final, realizaram-se as medições físicas não uma vez só, mas mais de uma vez para as mesmas condições experimentais. Com a repetição, diminuiu-se a influência de erros provenientes de aparelhagem e equipamentos e erros impossíveis de se prever, erro sistemático e aleatório, respectivamente, para se obter resultados muito mais próximos do verdadeiro valor da grandeza medida do que os obtidos com a medição única.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATRIZ VEGETAL

5.1.1 Caracterização do Leito Fixo

A primeira etapa de caracterização do leito fixo foi realizada através de uma análise da distribuição granulométrica das partículas resultantes da trituração da torta desengordurada de cupuaçu (TCPU).

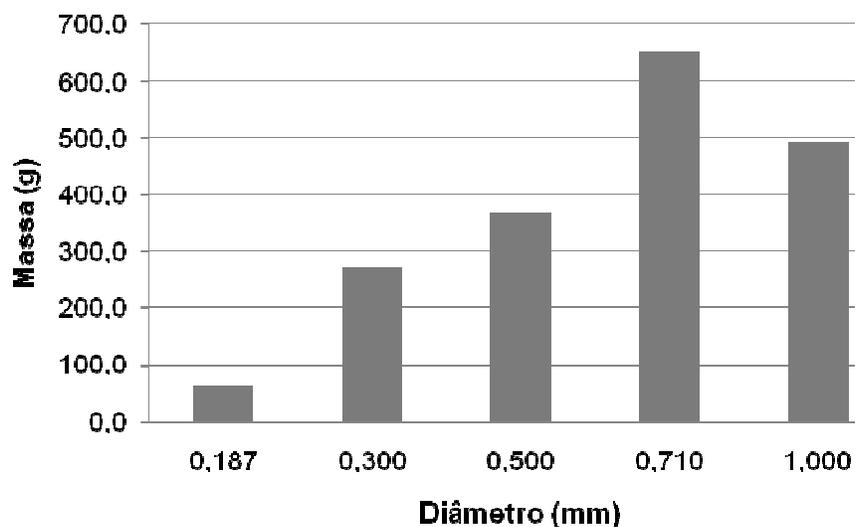


Figura 5.1 - Distribuição granulométrica das partículas moídas da torta desengordurada de cupuaçu.

As determinações da distribuição do tamanho das partículas e do diâmetro médio de Sauter foram realizadas em triplicata segundo o procedimento descrito na Seção 4.2.1.2. A representação gráfica da distribuição granulométrica é apresentada na Figura 5.1. O valor de diâmetro médio obtido foi de 0,830 mm com desvio padrão de 5%.

Os resultados obtidos relativos a densidade aparente (ρ_a), densidade real (ρ_r) e a porosidade do leito fixo (\square) foram de 954,7 kg/m³, 1.423 kg/m³ e 0,3292, respectivamente. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

5.1.2 Composição Centesimal

Tendo em vista à consecução dos objetivos propostos, esta pesquisa se voltou, em sua primeira etapa, para a determinação da composição química da matéria-prima selecionada, por ensaios analíticos, utilizando métodos oficiais.

Os resultados da composição centesimal e os valores nutricionais da torta desengordurada das amêndoas de cupuaçu encontram-se dispostos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Composição centesimal da torta desengordurada de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) em base integral em g/100g de amostra.

Constituintes	Amêndoa
Umidade (%)	8,51 ± 0,16
Cinzas (%)	4,57 ± 0,16
Lipídeos (%)	21,8 ± 1,77
Proteínas (%)	17,4 ± 0,55
Carboidratos (%)	24,3 ± 0,52
Fibras (%)	9,60 ± 0,83
VET (kcal)	362,5

VET = Valor Energético Total

Observando os resultados obtidos verifica-se que a torta de cupuaçu possui alto conteúdo protéico, lipídico e de carboidratos constituindo, por conseguinte, alto valor calórico (cada 100g de material fornece cerca de 362,5 kcal) constituindo, assim, uma importante fonte nutricional. O baixo teor de umidade verificado possibilitou a utilização da matéria-prima nos processos de extração supercrítica sem a necessidade de um pré-tratamento de secagem.

5.2 ISOTERMAS DE RENDIMENTO GLOBAL

O processo em que uma molécula ou um grupo de moléculas se torna parte de uma fase supercrítica pode ser descrita através de dois processos que ocorrem simultaneamente: a vaporização, visto que as moléculas se deslocam de uma fase condensada a uma fase expandida; e a solubilização, desde que o processo envolva interação soluto-solvente. Esta vaporização-solubilização combinada caracteriza a natureza intermediária do estado supercrítico [LUQUE de CASTRO et al., 1994]. O poder de solubilização do CO₂ no estado supercrítico depende da sua densidade, e nas regiões próximas ao ponto crítico, a densidade aumenta bruscamente com o aumento da pressão à temperatura constante, e também diminui com o aumento da temperatura a pressão constante. Embora a densidade do CO₂ seja conhecida, é necessário também conhecer a interação Solute-CO₂, porém pouco se conhece sobre a natureza das interações entre eles e como variam com a densidade.

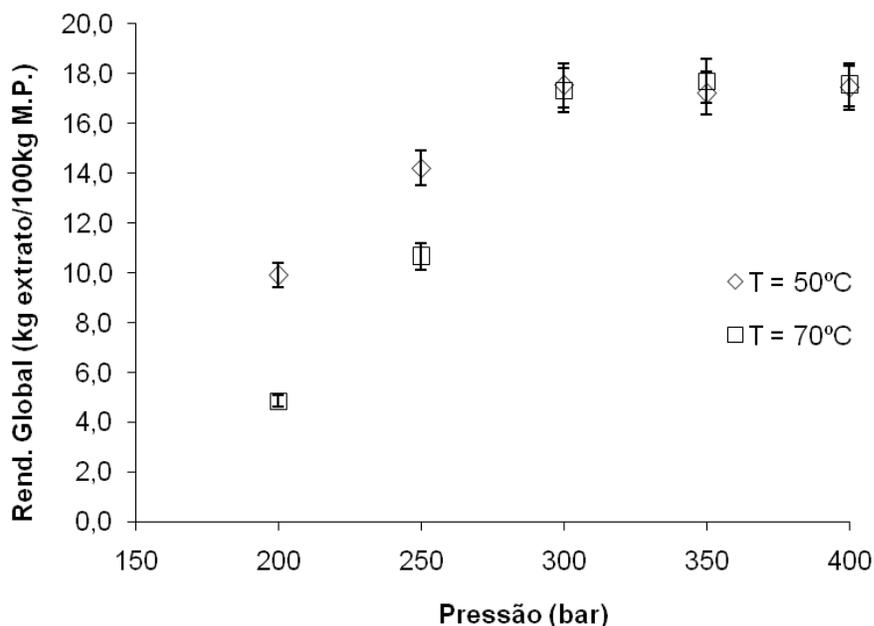


Figura 5.2 - Isotermas de rendimento global para o sistema TCPU-CO₂ em função da pressão.

Estas interações podem ser descritas através da medida do rendimento global para este sistema. Na Figura 5.2 estão apresentadas as isotermas de rendimento global para o sistema TCPU-CO₂ nas temperaturas de 50 e 70 °C e nas pressões de 200, 250, 300, 350 e 400 bar para cada isoterma.

De acordo com a Figura 5.3, observa-se que o aumento da pressão, nas duas isotermas, provoca um aumento no rendimento global, na densidade do solvente e conseqüentemente na solubilidade do extrato de torta de cupuaçu. Isso é resultado da diminuição da distância média entre as moléculas devido ao aumento da pressão causando, proporcionalmente, um aumento na interação específica soluto-solvente [LUQUE de CASTRO et al., 1994], facilitando assim o processo de extração da manteiga de cupuaçu.

Para o estudo do efeito da temperatura e da pressão no rendimento global e, conseqüentemente na solubilidade, é necessário levar em consideração dois efeitos: a pressão de vapor do soluto e a densidade do solvente. Observa-se na Figura 5.3 que, para

pressões abaixo de 300 bar, o rendimento global é maior na isoterma de 50 °C que na isoterma de 70 °C. Neste caso, prevalece o efeito da densidade do solvente.

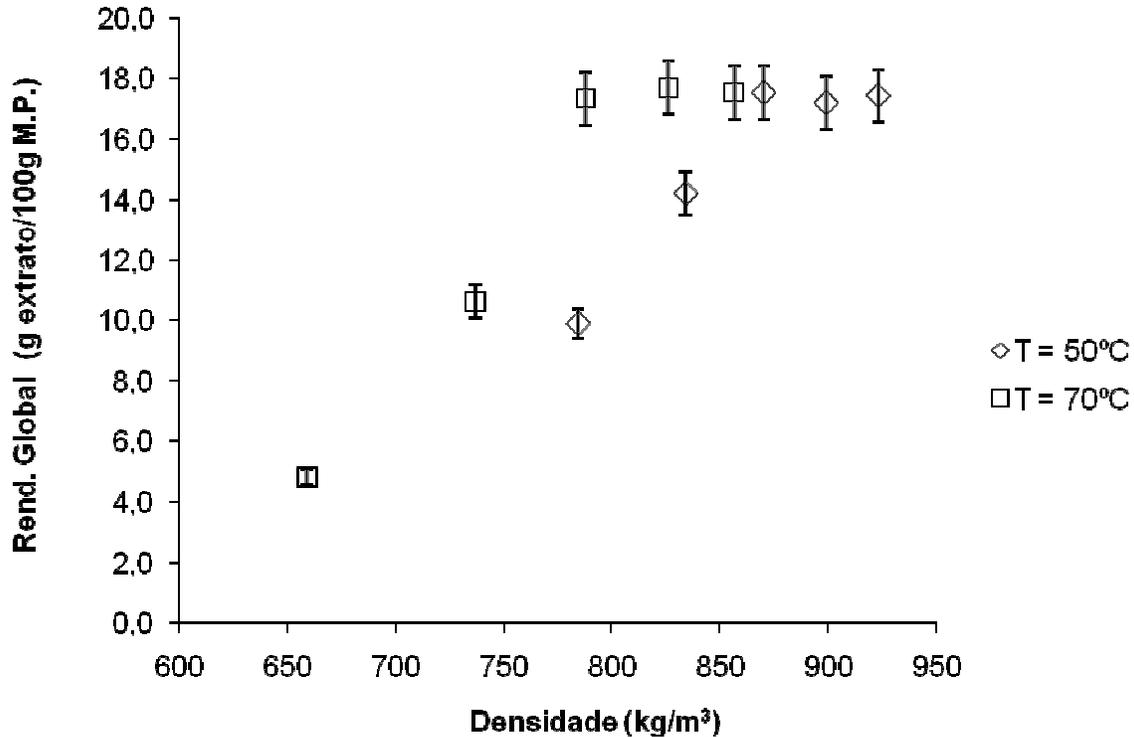


Figura 5.3 - Isotermas de rendimento global para o sistema TCPU-CO₂ em função da densidade do dióxido de carbono para as respectivas pressões de 200, 250, 300, 350 e 400 bar em ordem crescente.

Na Figura 5.3 observa-se que a densidade do CO₂ diminuiu com aumento da temperatura e, como resultado, o rendimento global da torta de cupuaçu em CO₂ diminuiu. Na pressão de 300 bar, as isotermas convergem e os dois efeitos têm a mesma importância sobre o rendimento global e, conseqüentemente, sobra a solubilidade; acima desta pressão o rendimento global é aproximadamente o mesmo para ambas as isotermas, sendo o rendimento global da isoterma de 70°C ligeiramente maior que para a isoterma de 50°C. Portanto, podemos definir a pressão de 300 bar como pressão de inversão. Para pressões maiores que 300 bar o efeito da pressão de vapor do soluto é mais importante que o efeito

da densidade do solvente. Podemos verificar na Figura 5.3 que a diferença entre o valor da densidade do solvente nas isotermas de 50 e 70 °C diminui à medida que aumentamos a pressão, mesmo assim continua maior para a isoterma de 50 °C. Entretanto, observa-se na Figura 5.2 que o rendimento global na isoterma de 70°C aumenta consideravelmente com o aumento da pressão, já para isoterma de 50 °C observa-se um menor aumento no rendimento global com o aumento da pressão. Na determinação das isotermas a condição que apresentou maior rendimento foi 300 bar a 50 ou 70°C (aproximadamente iguais) e o menor rendimento foi a 200 bar e 70 °C.

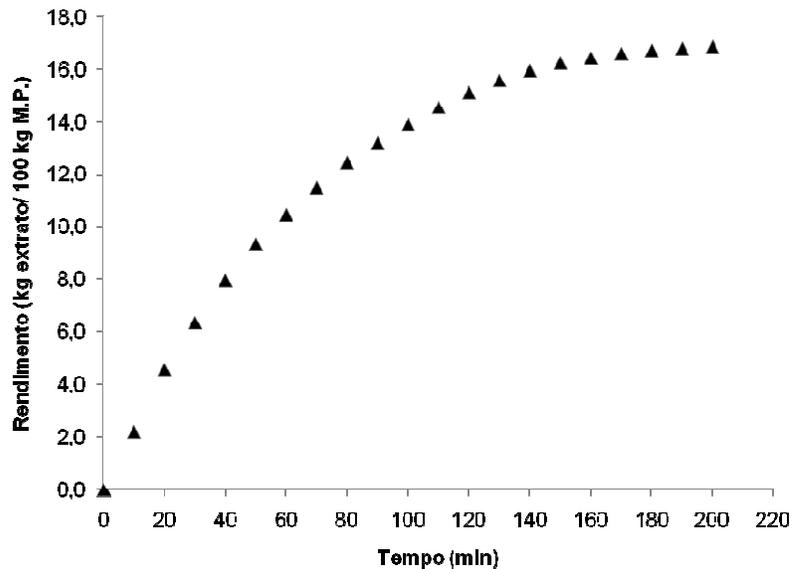
5.3 CINÉTICA DA EXTRAÇÃO

As condições de extração para a realização do estudo dos parâmetros cinéticos foram selecionadas segundo os critérios de otimização de maior rendimento, menor custo e maior qualidade do produto a ser obtido. Dessa maneira, tendo em vista que a partir da pressão de 300 bar sob ambas as temperaturas o rendimento mantém-se relativamente constante, então as condições selecionada para o estudo foram as de 300 e 350 bar ambas a 50°C, uma vez que menores valores de pressão e temperatura propiciam menores custos de manufatura, além do fato de que uma menor temperatura implica em menor degradação térmica. Sendo assim, os experimentos cinéticos foram conduzidos sob as seguintes condições apresentadas na Tabela 5.2 abaixo:

As Figura 5.4 e Figura 5.5 apresentam os pontos experimentais das curvas globais de extração obtidos no decorrer do tempo de extração para os dois ensaios cinéticos realizados. Através da análise do gráfico é possível verificar que em ambos os casos os ensaios foram conduzidos até o completo esgotamento da matéria-prima, isto é, até que não fosse verificada saída alguma de extrato da unidade extratora.

Tabela 5.2 - Dados de condições experimentais para estudo cinético a 300 e 350 bar a 50°C.

Condição	Ensaio Cinético				Unidades
	P (bar)	T (°C)	P (bar)	T (°C)	
	300	50	350	50	
Célula extratora	300		300		mL
Massa de M.P.	20,017		20,006		g
t	200		200		min
P ₀	0,938		0,940		bar
T ₀	22		26		°C
S/F:	69,13		68,37		kg CO ₂ /kg alimentação
d _{CO2}	1,690		1,671		kg/m ³
Q _{CO2}	11,5. 10 ⁻⁵		11,4. 10 ⁻⁵		kg/s

**Figura 5.4** - Curva global de extração obtida pela cinética à 300 bar e 50°C em função do tempo.

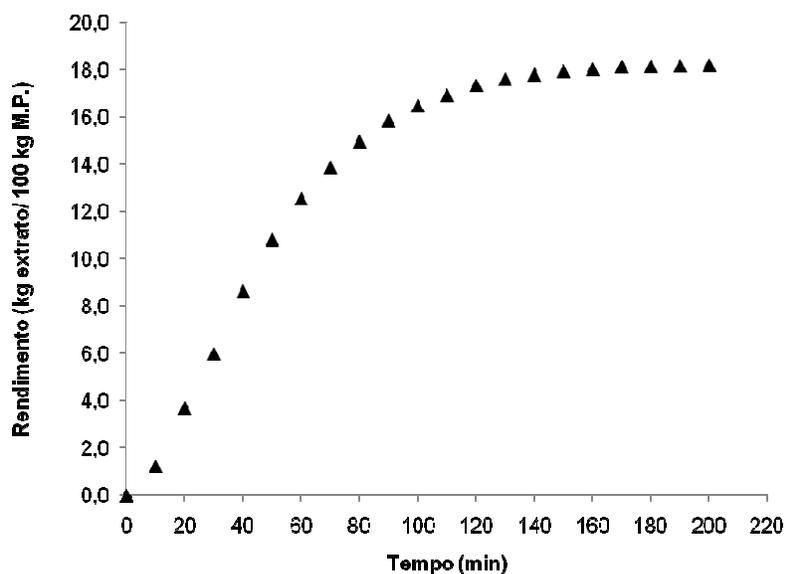


Figura 5.5 - Curva global de extração obtida pela cinética à 350 bar e 50°C em função do tempo.

As Figura 5.6 e Figura 5.7 mostram os pontos experimentais das curvas globais de extração ajustadas a um *spline* linear com 3 retas, conforme descrito na Seção 4.2.4, através do qual foram obtidas as taxas de transferência de massa nas etapas de taxa constante (CER), decrescente (FER) e controlada pela difusão (DC).

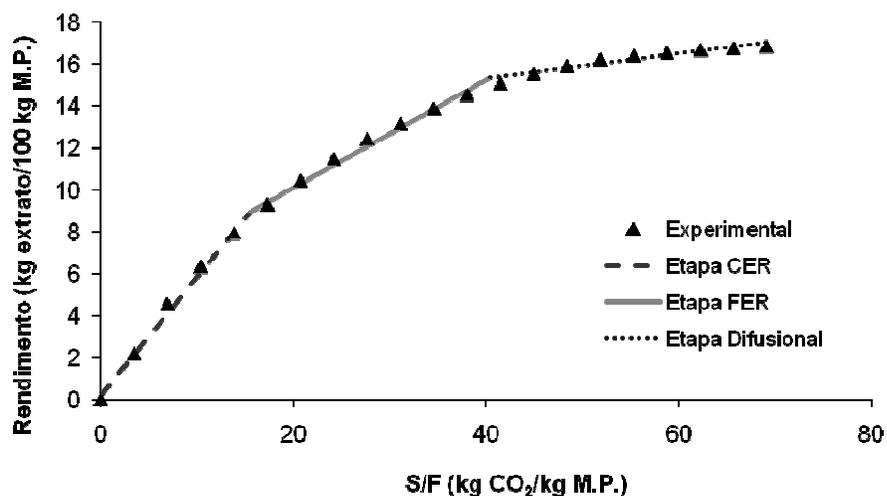


Figura 5.6 - Curva global de extração obtida pela cinética à 300 bar e 50°C em função da razão entre solvente alimentação (S/F) sob ajuste linear de três retas.

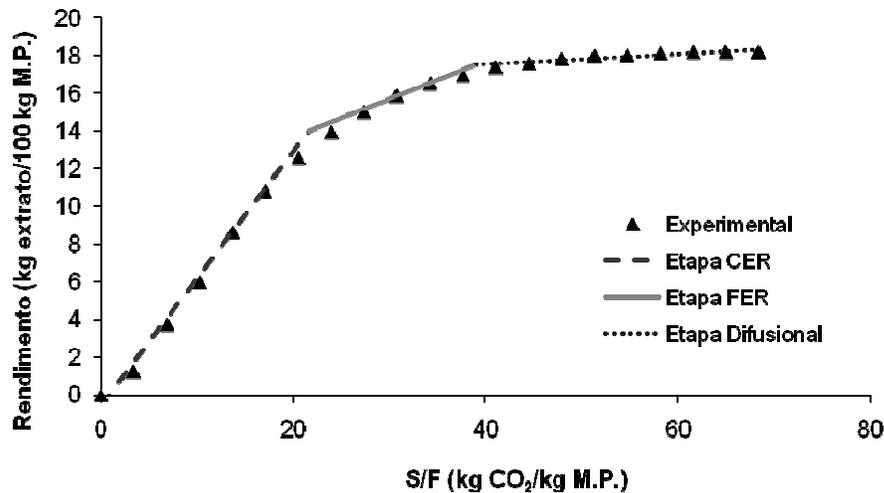


Figura 5.7 - Curva global de extração obtida pela cinética à 350 bar e 50°C em função da razão entre solvente alimentação (S/F) sob ajuste linear de três retas.

Os parâmetros da etapa CER, t_{CER} (min.), M_{CER} (kg/s) e Y_{CER} (kg extrato/100kg CO_2) calculados pelo modelo obtido através do ajuste ao *spline*, estão apresentados na Tabela 5.3. O rendimento para a condição adotada na cinética e para esta etapa de extração (R_{CER}) foi calculado multiplicando-se a razão mássica de extrato na saída do leite (Y_{CER}) pela razão S/F_{CER} (kg CO_2 /kg alimentação).

Tabela 5.3 - Parâmetros cinéticos da etapa CER obtidos através do ajuste ao *spline* com três retas aos pontos experimentais obtidos da cinética de extração da amostra TCPU.

Condição do Ensaio Cinético (P/T)	M_{CER} (kg/s)	t_{CER} (min)	Y_{CER} (kg extrato/ kg CO_2)	S/F_{CER} (kg CO_2 /kg alimentação)	R_{CER} kg extrato/kg alimentação
300/50	$6,65 \cdot 10^{-5}$	45	0,5771	15,55	8,975
350/50	$7,39 \cdot 10^{-5}$	63	0,6490	21,53	13,97

5.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

5.4.1 Cromatografia em Camada Delgada

Para a detecção dos compostos fenólicos dos extratos supercríticos da TCPU, a fase móvel foi composta por hexano e acetato de etila no proporção 80:20, respectivamente. A detecção foi realizada borrifando-se o reagente Anisaldeído Sulfúrico (AS).

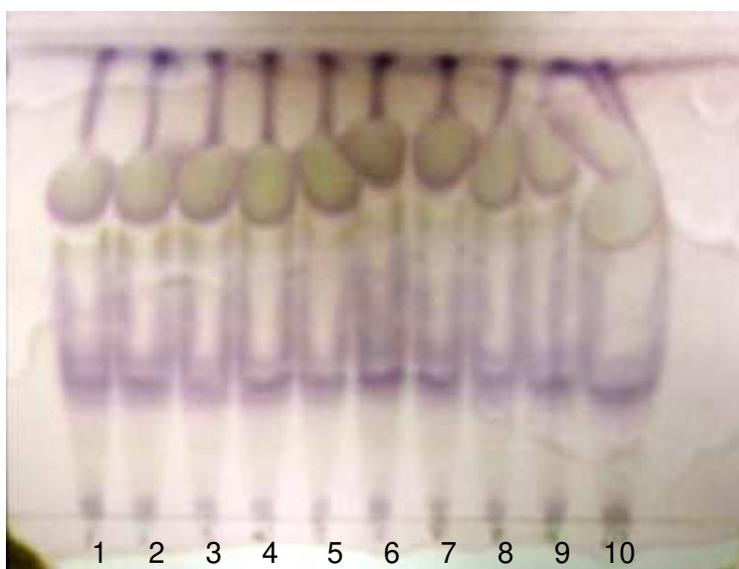


Figura 5.8 - Compostos fenólicos no visível com tratamento químico (AS): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.

Uma amostra de extrato supercrítico da TCPU de cada condição de extração estudada foi utilizada para a preparação das soluções a serem aplicadas nas cromatofolhas. A princípio as concentrações estudadas foram de 90, 150 e 200 mg/mL, porém não houve detecção. Sendo assim, as concentrações das soluções utilizadas foram aumentadas para aproximadamente 500 mg/mL, com apenas uma aplicação do tubo capilar para cada amostra.

A cromatofolha utilizada para a visualização de compostos fenólicos possuía sílica UV-sensível e por isso foi possível a visualização em UV-366 nm de uma camada lilás brilhante exibidos na Figura 5.9, o que pode indicar a presença de ácidos carboxílicos fenólicos.

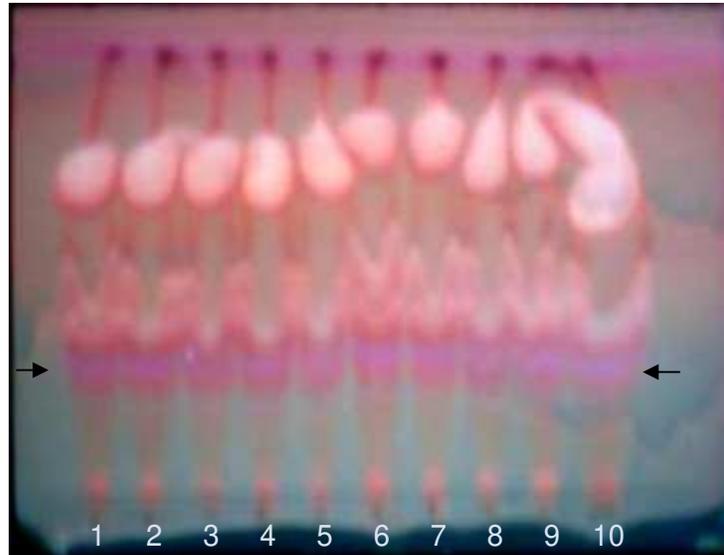


Figura 5.9 - Compostos fenólicos em UV-366 nm com tratamento químico (AS): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.

Para a detecção dos flavonóides dos extratos supercríticos da TCPU, a fase móvel foi composta por acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético glacial e água na proporção de 100:11:11:26. A detecção foi realizada borrifando-se o reagente *Natural Products-Polyethylene Glycol* (NP/PG) [WAGNER & BLADT, 1996]. Uma amostra de extrato supercrítico da TCPU de cada condição de extração estudada foi utilizada para a preparação das soluções a serem aplicadas nas cromatofolhas. Assim como para os compostos fenólicos, a princípio as concentrações estudadas foram de 90, 150 e 200 mg/mL, porém não houve detecção. Sendo assim, as concentrações das soluções utilizadas foram aumentadas

para aproximadamente 500 mg/mL, também com apenas uma aplicação do tubo capilar para cada amostra.

Os alcalóides foram observados em comprimento de onda de 366 nm, os quais são visualizados na Figura 5.10 através das colorações azul e azul-esverdeado com várias bandas, indicando a presença de flavonóides de vários tipos diferentes.

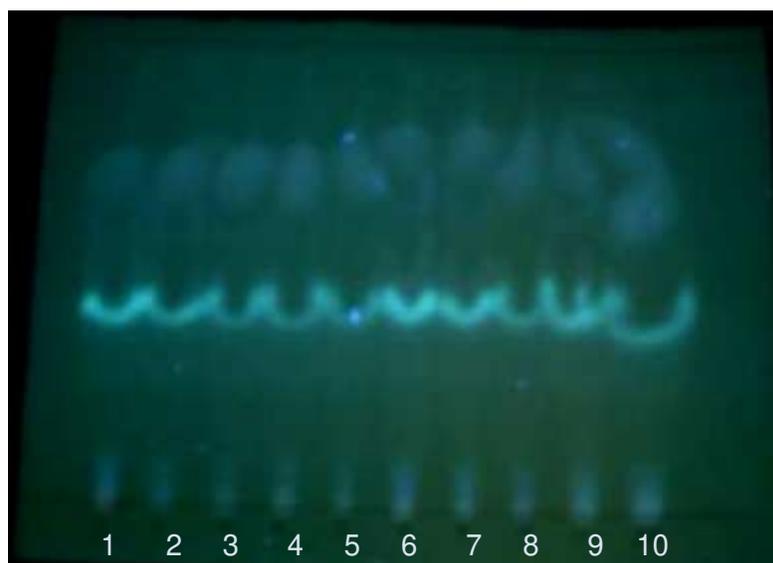


Figura 5.10 - Flavonóides em UV-366 nm com tratamento químico (NP/PG): (1) 200bar/50°C, (2) 250bar/50°C, (3) 300bar/50°C, (4) 350bar/50°C, (5) 400bar/50°C, (6) 200bar/70°C, (7) 250bar/70°C, (8) 300bar/70°C, (9) 350bar/70°C, (10) 400bar/70°C.

Verificou-se a semelhança no perfil químico qualitativo tanto dos compostos fenólicos quanto dos flavonóides, através das bandas visualizadas nas Figura 5.8, Figura 5.9 e Figura 5.10 acima, o que indica, possivelmente, que as diferentes temperaturas e pressões estudadas não influenciaram de forma qualitativa na extração destes compostos químicos na amostra ES-TCPU.

5.4.2 Fenóis Totais

Utilizou-se como padrão o ácido gálico nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 ppm para construir uma curva de calibração (Figura 8.1, vide Apêndice C). A partir da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de fenóis totais expresso em equivalentes de ácido gálico (GAE - *Galic Acid Equivalent*).

De acordo com a Figura 5.11, verifica-se que praticamente não há variação no teor de compostos fenólicos em ambas as isotermas com a variação da pressão. Contudo, no que diz respeito às isotermas estudadas, há um maior teor de compostos fenólicos na isoterma de 70°C (cerca de 15 mg/100g) do que na de 50°C (4 a 8 mg/100g). Esse comportamento provavelmente se deve ao fato de as temperaturas estarem influenciando na pressão de vapor da mistura em estudo, variando assim sua solubilidade e, por conseguinte, a concentração de compostos fenólicos obtidos no final do processo de extração.

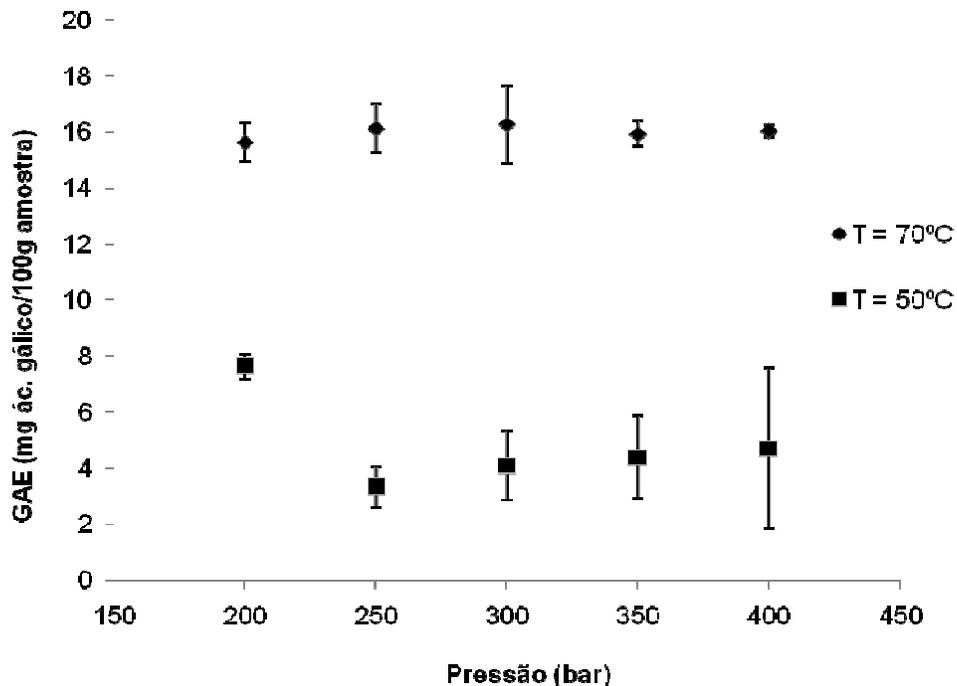


Figura 5.11 - Concentração de compostos fenólicos em GAE.

5.4.3 Flavonóides Totais

Utilizou-se como padrão a rutina, nas concentrações de 100, 200, 300 e 400 ppm para construir a curva de calibração (Figura 8.2). A partir da equação da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de flavonóides totais expresso em mg de rutina/100g de amostra.

No que se refere ao teor de flavonóides totais para cada condição de extração verifica-se um perfil oscilante onde as isotermas se cruzam em vários pontos o que pode determinar uma oscilação devido a variações na pressão de vapor do soluto e/ou na pressão total do sistema. Além disso, a temperatura demonstra ter pouco efeito sobre a solubilidade dos flavonóides, obtendo-se valores médios de 180 a 225 mg/100g.

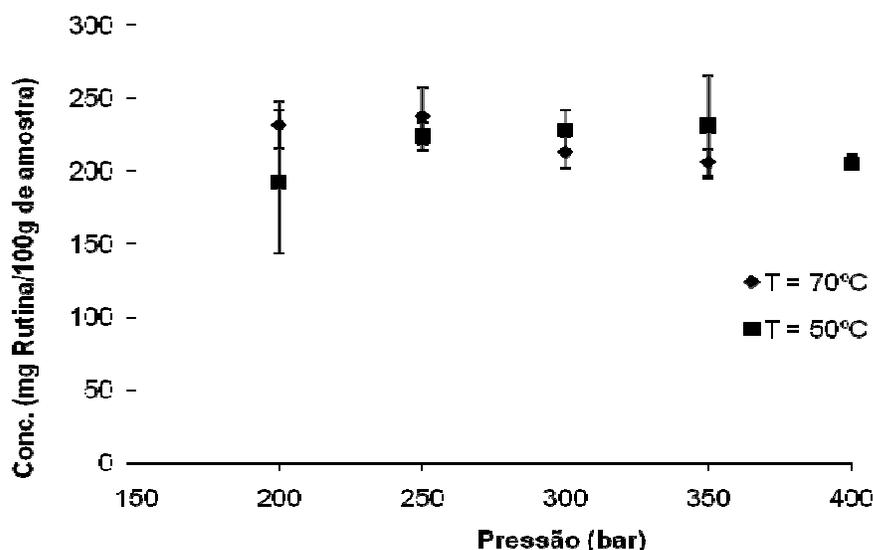


Figura 5.12 - Concentração de flavonóides em equivalentes de rutina (mg/100g amostra).

É importante observar que as concentrações de flavonóides obtidas nos extratos supercríticos são superiores aos valores encontrados referentes às concentrações de compostos fenólicos. Contudo, tendo em vista que as determinações tanto do teor de fenóis totais quanto o de flavonóides totais utilizam metodologias distintas bem como padrões

distintos, é impossível mensurar de forma comparativa as duas metodologias utilizadas uma vez que possuem bases de cálculos diferentes.

5.4.4 Tocóis Totais

Os tocóis totais identificados nos extratos supercríticos da TCPU obtidos a 50 e 70°C estão apresentados na Tabela 5.4 e Tabela 5.5, respectivamente.

Para a isoterma de 50°C nas cinco pressões estudadas foram identificados os tocoferóis γ -tocoferol, α -tocoferol (exceto a 400bar) e δ -tocoferol (exceto a 350 e 400bar). Não foi detectado nenhum tocotrienol nas condições de extração analisadas. Dessa maneira, observa-se que a concentração do γ -tocoferol decresce com o aumento da pressão, sendo a maior concentração na condição de 200 bar com 31,19 mg/100g e a menor na condição de 400 bar com 13,38 mg/100g.

Tabela 5.4 - Tocóis totais detectados nas cinco condições de pressão dos extratos supercríticos de TCPU obtidos a 50°C (mg/100g de ex trato).

Tocóis Totais	P (bar)				
	200	250	300	350	400
α -tocoferol	0,78	0,85	0,69	0,64	nd
β -tocoferol	nd	nd	nd	nd	nd
γ -tocoferol	31,19	22,44	18,61	18,42	13,38
δ -tocoferol	1,36	0,83	2,21	nd	nd
α -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
β -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
γ -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
δ -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
IRG	9,908942	14,20757	17,51308	17,18798	17,42323
$m_{\gamma\text{-tocoferol}}/F$ (mg/g)	3,090522	3,188685	3,258559	3,16541	2,331455

nd = não detectado

Para a isoterma de 70°C nas cinco pressões estudadas foram identificados os tocoferóis: γ -tocoferol, δ -tocoferol e α -tocoferol (exceto a 350 bar). Não foi detectado nenhum tocotrienol nas condições de extração analisadas. Assim como a 50°C os extratos supercríticos obtidos na temperatura de 70°C apresentaram um perfil de concentração de γ -tocoferol decrescente com o aumento da pressão sendo seu valor máximo de 48,29 mg/100g a 200 bar e o menor valor de cerca de 14 mg/100g a 400 bar.

Tabela 5.5 - Tocóis totais detectados nas cinco condições de pressão dos extratos supercríticos de TCPU obtidos a 70°C (mg/100g de extrato).

Tocóis Totais	P (bar)				
	200	250	300	350	400
α -tocoferol	3,26	1,70	1,29	nd	0,64
β -tocoferol	nd	nd	nd	nd	nd
γ -tocoferol	48,29	29,45	21,09	14,16	14,44
δ -tocoferol	4,71	1,87	2,55	2,13	2,07
α -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
β -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
γ -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
δ -tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd
IRG	4,843848	10,63161	17,32178	17,68237	17,53083
$m_{\gamma\text{-tocoferol}}/F$ (mg/g)	2,339189	3,131514	3,653278	2,503715	2,531543

nd = não detectado

Para uma análise mais apurada dos resultados foi realizado o cálculo da massa de γ -tocoferol (mg) com relação a massa de alimentação (g) para cada condição das isotermas de rendimento global uma vez que este tocoferol foi o único que apresentou concentração detectável em todas as condições. Dessa maneira, verificou-se que o perfil de concentração

calculado resultou em um ponto de máxima concentração do extrato na pressão de 300 bar em ambas as isotermas de 50 e 70°C, como pode ser visualizado na Figura 5.13.

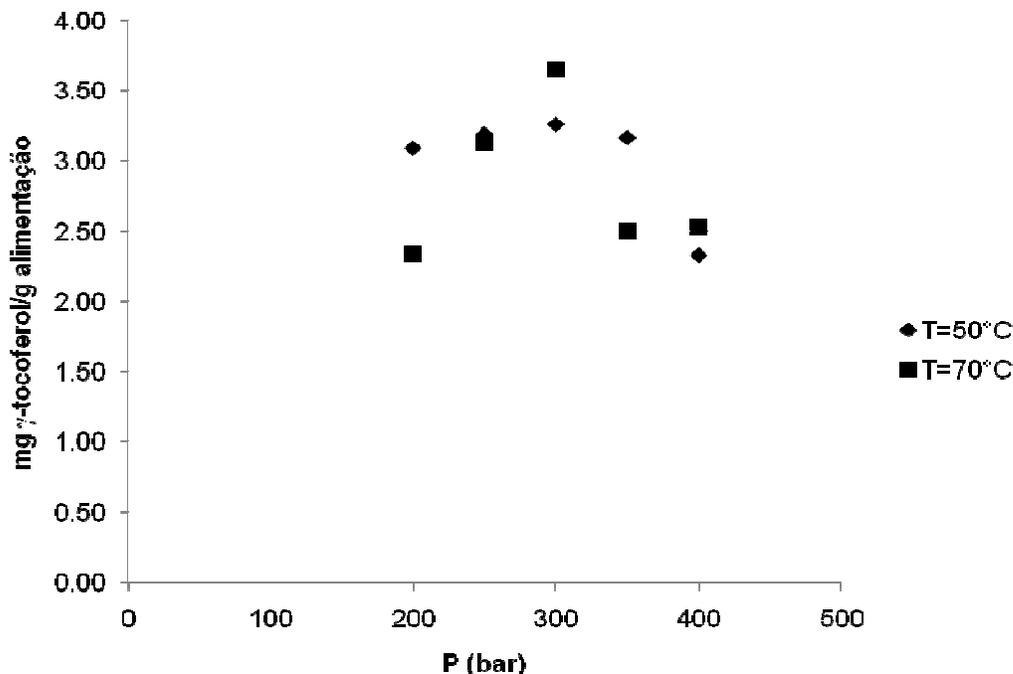


Figura 5.13 - Análise do rendimento de γ -tocoferol frente aos dados das isotermas de rendimento global.

5.4.5 Ácidos Graxos

O perfil de ácidos graxos que compõem a fração lipídica dos extratos supercríticos a cada condição de extração se encontra nas Tabela 5.6 e Tabela 5.7. Como pode se observar os teores de ácidos graxos saturados e insaturados são bem próximos, havendo uma leve predominância de ácidos graxos saturados com relação aos ácidos graxos insaturados o que pode ser corroborado pelos dados obtidos por **VASCONCELOS et al. [1975]** e **AZEVEDO [2001]**.

Nos extratos supercríticos obtidos a 50°C, os ácidos graxos saturados predominantes são o esteárico, o araquídico e o palmítico com cerca de 31,55-32,97, 9,34-11,36 e 7,12-

8,74%, respectivamente. Já os ácidos graxos insaturados predominantes são o oléico e o linoléico com cerca de 41,65-43,39 e 3,73-4,29%, respectivamente.

Tabela 5.6 - Composição de ácidos graxos dos extratos supercríticos da torta de cupuaçu a temperatura de 50°C.

Nomenclatura			Pressão (bar)				
IUPAC	Oficial	Popular	200	250	300	350	400
C12:0	Dodecanóico	Láurico	nd	nd	nd	nd	Nd
C14:0	Tetradecanóico	Mirístico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
C16:0	Hexadecanóico	Palmítico	8,74	8,35	7,97	8,72	7,12
C16:1	9-hexadecanóico	Palmitoléico	0,10	0,09	0,08	0,10	0,07
C17:0	Heptadecanóico	Margárico	0,19	0,19	0,19	0,19	0,18
C17:1	8-heptadecanóico	8-heptadecanóico	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
C18:0	Octadecanóico	Esteárico	31,55	32,27	32,53	31,75	32,97
C18:1	9-octadecanóico	Oléico	43,39	42,90	42,49	43,36	41,65
C18:2	9,12-octadecadienóico	Linoléico	4,29	4,10	3,96	4,32	3,73
C18:3	9,12,15-octadecatrienóico	Linolênico	0,18	0,16	0,16	0,18	0,14
C20:0	Eicosanóico	Araquídico	9,43	9,76	10,25	9,34	11,36
C20:1	11-eicosenóico	Gadoléico	0,38	0,38	0,39	0,38	0,39
C22:0	Docosanóico	Behêmico	1,47	1,53	1,67	1,42	2,03
C24:0	Tetracoisanóico	Lignocérico	0,20	0,21	0,23	0,19	0,30
Total de saturados			51,62	52,34	52,88	51,64	53,99
Total de insaturados			48,37	47,65	47,12	48,36	46,01

nd = não detectado

Para os extratos supercríticos obtidos a 70°C, os ácidos graxos saturados de maior ocorrência são o esteárico e o palmítico seguido pelo araquídico com os valores de 31,50-32,79, 7,25-10,14 e 8,48-11,07%, respectivamente. Os ácidos graxos insaturados com maior incidência são o oléico e o linoléico com 42,05-43,01 e 3,80-4,47%, respectivamente.

Como se pode inferir a partir dos resultados obtidos, tanto os extratos supercríticos obtidos a 50 como a 70°C nas cinco pressões (200, 250, 300, 350 e 400 bar) possuem ácidos graxos importantes para compor uma dieta saudável, pois ambos apresentam significativos percentuais dos ácidos graxos essenciais, como por exemplo, oléico e linoléico.

Tabela 5.7 - Composição de ácidos graxos dos extratos supercríticos da torta de cupuaçu a temperatura de 70°C.

Nomenclatura		Pressão (bar)					
IUPAC	Oficial	Popular	200	250	300	350	400
C12:0	Dodecanóico	Láurico	nd	nd	nd	nd	nd
C14:0	tetradecanóico	Mirístico	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04
C16:0	hexadecanóico	Palmítico	10,14	8,18	8,29	7,25	8,22
C16:1	9-hexadecanóico	Palmitoléico	0,12	0,09	0,09	0,07	0,09
C17:0	heptadecanóico	Margárico	0,21	0,19	0,19	0,18	0,19
C17:1	8-heptadecanóico	8- heptadecanóico	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
C18:0	octadecanóico	Estearico	31,50	32,34	32,77	32,79	32,43
C18:1	9-octadecanóico	Oléico	43,01	42,56	42,43	42,05	42,53
C18:2	9,12-octadecadienóico	Linoléico	4,47	3,98	3,98	3,80	4,09
C18:3	9,12,15-octadecatrienóico	Linolênico	0,21	0,16	0,17	0,15	0,16
C20:0	eicosanóico	Araquídico	8,48	10,14	9,92	11,07	10,02
C20:1	11-eicosenóico	Gadoléico	0,37	0,38	0,38	0,39	0,38
C22:0	docosanóico	Behêmico	1,22	1,67	1,54	1,93	1,61
C24:0	tetracoisanóico	Lignocérico	0,19	0,24	0,20	0,28	0,22
Total de saturados			51,80	52,81	52,96	53,54	52,73
Total de insaturados			48,21	47,20	47,07	46,49	47,27

nd = não detectado

5.4.6 Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* foi realizada através do método de co-oxidação β -caroteno/ácido linoléico. Nessa metodologia foram utilizadas diferentes

concentrações do padrão BHT, bem como os extratos provenientes de cada condições de extração supercrítica. A reação ocorre de forma que tanto os antioxidantes das amostras quanto do padrão BHT reagem com o sistema emulsionado produzindo quedas da densidade óptica em intervalos passíveis de serem mensurados. Nessa metodologia a descoloração da solução β -caroteno/ácido linoléico, em meio aquoso emulsionado, ocorre em função das estruturas radicalares formadas pela oxidação do ácido linoléico, que atacam as duplas ligações do β -caroteno, perdendo seu cromóforo, resultando na descoloração do complexo alaranjado característico da solução. A presença de antioxidantes no sistema protege o ácido linoléico, prolongando o período de formação dos radicais [HUANG & WANG, 2004]. Quanto menor a queda na densidade óptica da amostra, mais potente é o antioxidante em inibir a degradação do β -caroteno.

As capacidades antioxidante do padrão BHT a diferentes concentrações e dos extratos supercríticos obtidos a diferentes condições de extração podem ser observadas nas figuras a seguir. Pode-se observar que os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram aqueles sob as condições mais críticas, isto é, sob maior temperatura e pressão.

LEGENDA:

Padrão	Concentração
BHT1	20 ppm
BHT2	40 ppm
BHT3	60 ppm
BHT4	80 ppm
BHT5	100 ppm
BHT6	200 ppm

Controle	Triplicata
C1	Controle 1
C2	Controle 2
C3	Controle 3
Condição	Duplicata
P(bar)/T(°C).I	I
P(bar)/T(°C).II	II

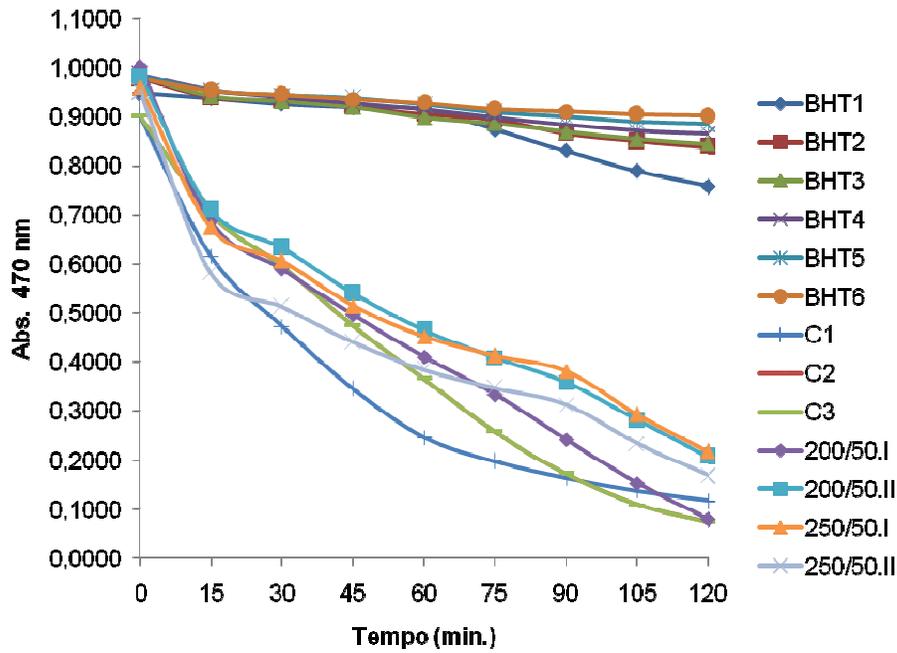


Figura 5.14 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 200 e 250 bar a 50°C e suas duplicatas I e II.

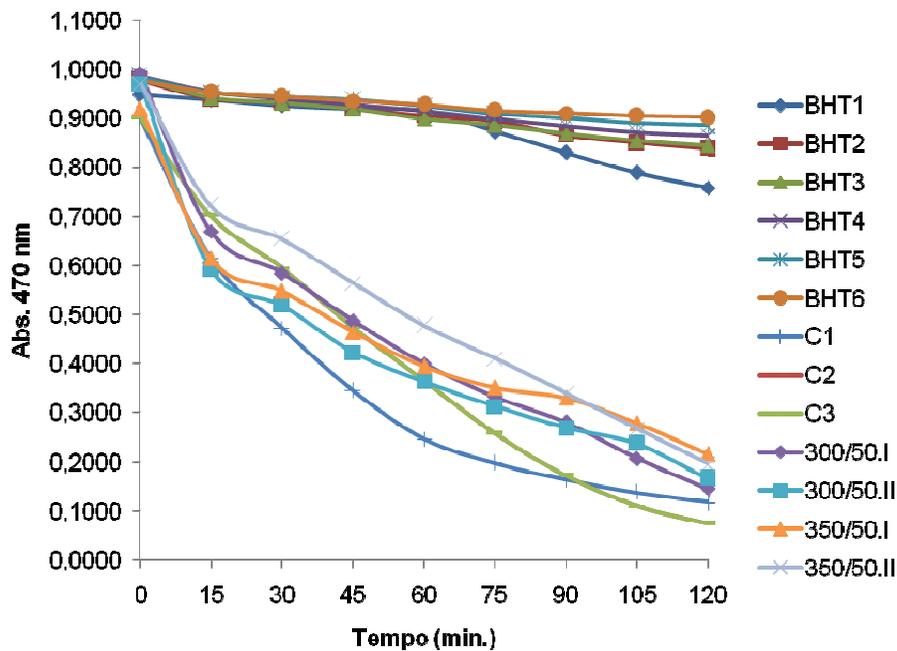


Figura 5.15 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 300 e 350 bar a 50°C e suas duplicatas I e II.

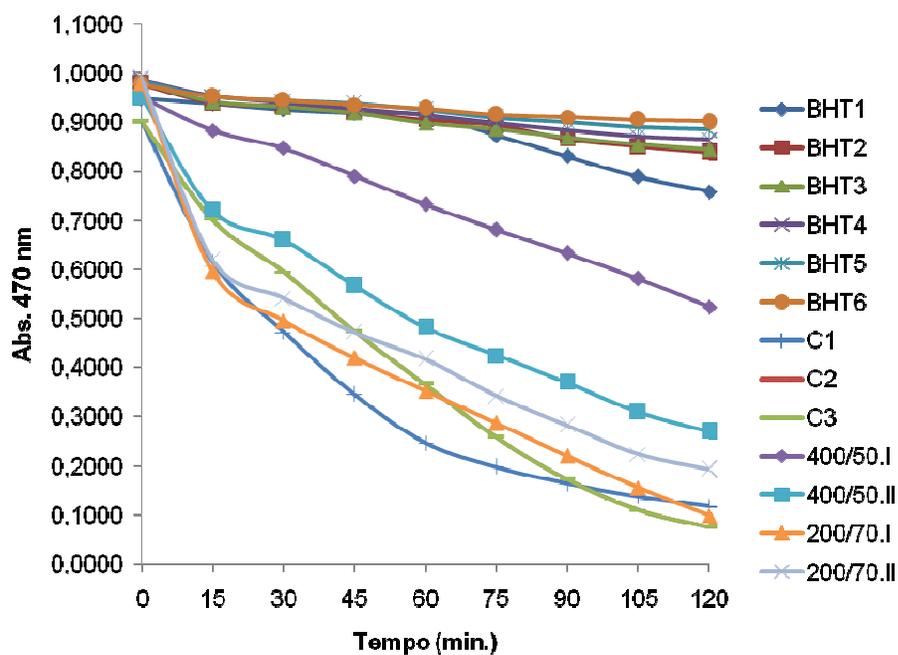


Figura 5.16 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do estrato supercrítico nas condições de 400 bar a 50°C e 200 bar a 70°C e suas duplicatas.

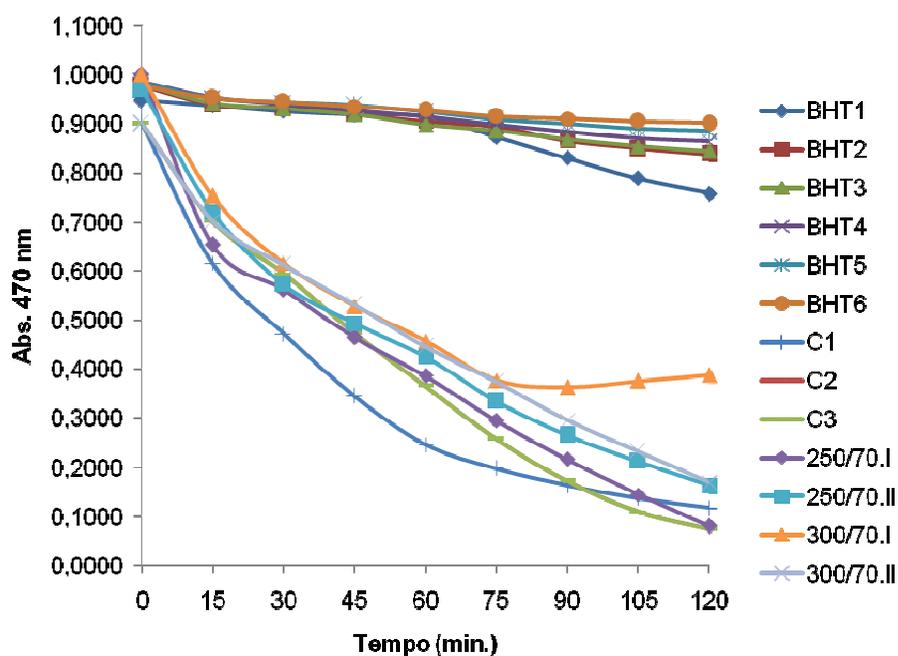


Figura 5.17 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do estrato supercrítico nas condições de 250 e 300 bar a 70°C e suas duplicatas I e II.

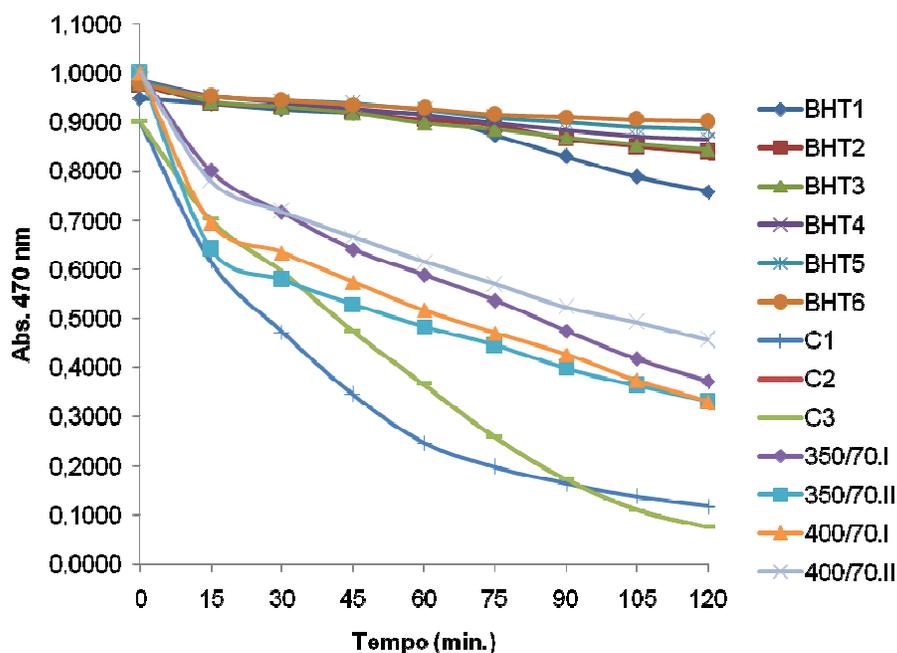


Figura 5.18 - Curva cinética do potencial antioxidante do padrão BHT, do controle e do extrato supercrítico nas condições de 350 e 400 bar a 70°C e suas duplicatas I e II.

A partir das curvas cinéticas obtidas é possível calcular os fatores cinéticos do padrão BHT e dos extratos supercríticos em cada condição de extração conforme descrito na Seção 4.2.5.4. Esses fatores cinéticos foram propostos por **YANISHLIEVA & MARINOVA [1995]**, segundo os quais no fator F1 (calculado no período entre 15 e 45 minutos de reação) é mensurada a eficiência do antioxidante em bloquear a reação em cadeia, por meio da inativação dos radicais peróxidos. Já o fator F2 (calculado no período entre 75 e 105 minutos de reação) está associado à capacidade do antioxidante de participar de reações, como por exemplo, a decomposição dos produtos secundários da oxidação, como os radicais hidroperóxidos. Em ambos os casos, se o valor da razão entre as tangentes das curvas do extrato e do controle forem menor que 1, então há uma atividade antioxidante efetiva. Contudo, se o valor dessa razão for maior que 1, então não há atividade antioxidante e o extrato pode, inclusive, atuar como pró-oxidante. Vários autores têm utilizado esse recurso

na avaliação da eficácia antioxidante de diferentes matrizes alimentares [NASCIMENTO et al., 2006; JARDINI & MANCINI FILHO, 2007].

Tabela 5.8 - Atividade antioxidante e fatores cinéticos caracterizando a inibição da oxidação no padrão BHT e nos extratos supercríticos a diferentes condições de extração.

Extratos e Frações	% Inibição da Oxidação	Fatores Cinéticos	
		F1	F2
BHT1	76,70	0,08	0,71
BHT2	82,92	0,08	0,37
BHT3	83,32	0,09	0,27
BHT4	85,03	0,11	0,23
BHT5	88,00	0,06	0,17
BHT6	90,58	0,07	0,09
200/50	-4,30	0,74	1,29
250/50	6,15	0,62	0,98
300/50	-1,58	0,73	0,85
350/50	8,88	0,64	0,91
400/50	31,83	0,51	0,91
200/70	-3,46	0,67	1,05
250/70	-6,38	0,86	1,15
300/70	17,25	0,81	0,60
350/70	20,09	0,57	0,84
400/70	25,26	0,49	0,73

De acordo com a Tabela 5.8, pode-se verificar que a inibição da oxidação apresentada pelo padrão BHT é diretamente proporcional a sua concentração, isto é, o aumento da concentração do antioxidante BHT proporciona um aumento gradativo na percentagem de inibição da oxidação. Além disso, o padrão antioxidante apresentou valores do fator F1 extremamente baixos (inferiores a 0,2) em todas as concentrações, o que indica uma alta capacidade antioxidante relativa à degradação de peróxidos. Entretanto, o comportamento apresentado pelos valores do fator F2 foi um perfil decrescente de cerca de 0,7 a 0,09 com o aumento da concentração do padrão. Portanto, baixas concentrações de BHT não são efetivas na inativação de produtos secundários, como hidroperóxidos.

Com relação aos extratos supercríticos, observou-se que os maiores valores de pressão em ambas as temperaturas apresentaram os maiores percentuais de inibição: 31,83 e 25,26% para a pressão de 400 bar nas isothermas de 50 e 70°C, respectivamente. Com relação aos valores do fator F1 o perfil apresentado é que todos os extratos apresentaram valores inferiores a 1 sendo, portanto, efetivos na inativação da reação em cadeia. Já no que diz respeito aos valores do fator F2, todos foram inferiores a 1, exceto nas condições de 200 bar a 50°C e 200 e 250 bar a 70°C. Isso pode indicar uma ausência de capacidade antioxidante, ou ainda, uma capacidade pró-oxidante dos extratos com relação aos produtos secundários da reação nestas condições de extração.

5.5 ANÁLISE DE CUSTOS

Os custos de manufatura dos extratos supercríticos obtidos da torta desengordura de cupuaçu foram estimados utilizando-se a metodologia proposta por **ROSA & MEIRELES [2005]**. A massa total de partículas estimada a ser empacotada dentro da coluna de extração de 400 litros foi de 381,87 kg. A razão entre a massa das partículas no extrator e a vazão mássica de CO₂ no experimento realizado foi de 173,83 segundos, cuja baixa taxa de extração da manteiga de cupuaçu provavelmente deve-se a baixa solubilidade no CO₂ supercrítico, cerca de 0,0145 kg de extrato/kg de CO₂. A vazão mássica de CO₂ a ser utilizada na unidade extratora foi calculada utilizando o critério de aumento de escala mencionado na seção 4.2.6, resultando em uma vazão mássica de CO₂ de 7908 kg/h. De acordo com dados do **IBGE [1996]**, o custo da tonelada métrica do cupuaçu foi estimado em US\$ 202,00.

A influência do tempo de extração no custo específico do extrato, o qual é definido como sendo o custo de manufatura dividido pela massa total de extrato produzida, pode ser observada nas Figura 5.19 e Figura 5.20. No cálculo do custo específico foi utilizado o

rendimento do extrato para cada tempo de extração apresentado nas Figura 5.4 e Figura 5.5 na Seção 5.3.

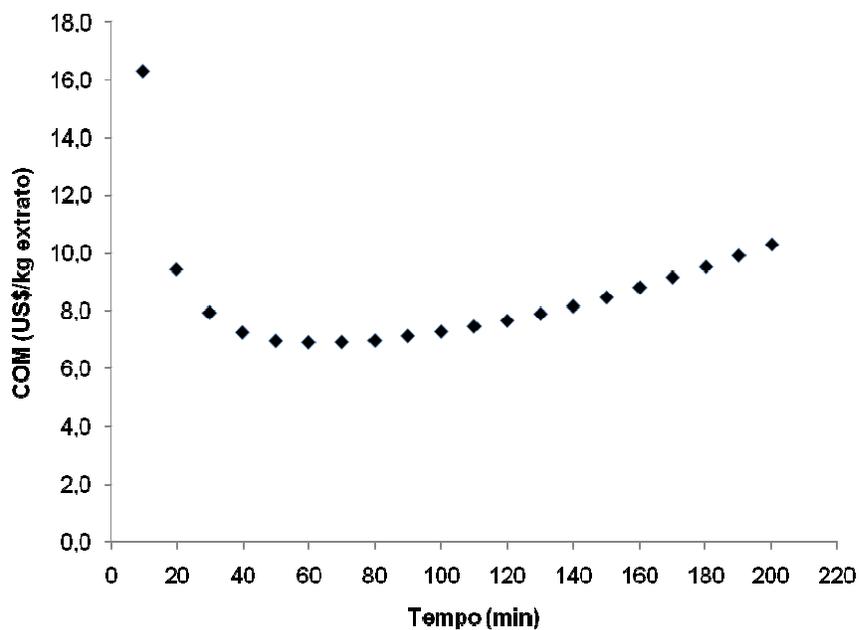


Figura 5.19 - Influência do tempo de extração no custo específico do extrato obtido da torta desengordurada de cupuaçu através do ensaio cinético a 300 bar e 50°C.

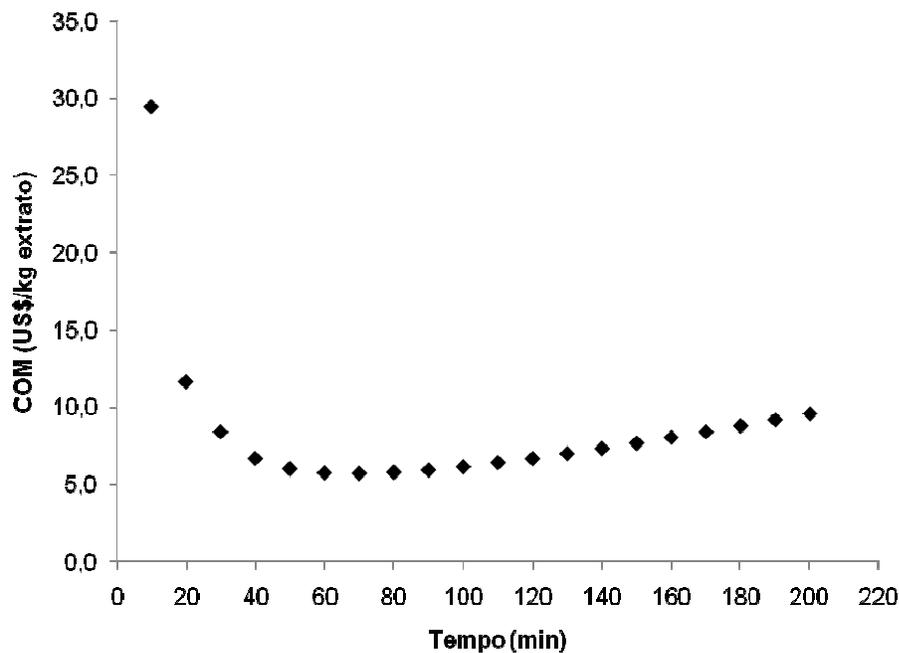


Figura 5.20 - Influência do tempo de extração no custo específico do extrato obtido da torta desengordurada de cupuaçu através do ensaio cinético a 350 bar e 50°C.

De acordo com as Figura 5.19 e Figura 5.20, pode-se observar que o menor custo específico do extrato obtido da torta desengordurada de cupuaçu foi de US\$ 6,90/kg e US\$ 5,74/kg com um tempo de extração de 60 e 70 minutos, respectivamente. Além disso, verifica-se que para um pequeno tempo de extração apenas uma pequena quantidade de soluto pode ser extraído e, nessas condições, o custo da matéria-prima é alto. Contudo, à medida que o tempo de extração é acrescido ocorre uma diminuição no custo específico do extrato até um ponto mínimo que, em geral, situa-se entre o t_{CER} e o t_{FER} .

6 CONCLUSÕES

A análise das isotermas de rendimento global mostra que a pressões inferiores a 300 bar a extração é favorecida a menores temperaturas; porém, a pressões maiores, um aumento na temperatura aumenta a solubilidade, visto que a pressão de vapor dos triglicerídeos passa a ter maior influência que a redução da densidade do solvente, juntamente com as características viscosas. Dessa maneira o comportamento retrógrado observado é similar ao citado por **McHUGH & KRUKONIS [1994]** havendo ponto de inversão entre a pressão de 300 e 350 bar onde ocorre o cruzamento das duas isotermas. Dessa maneira foram realizados dois ensaios cinéticos sendo um a 300 e o outro a 350 bar ambos a 50°C.

Os ensaios cinéticos realizados permitiram constatar que a etapa de taxa constante de extração extraiu mais de 50% de extrato. O tempo obtido neste período é uma boa estimativa de tempo mínimo de ciclo de processo. Porém, talvez a estimativa mais adequada seja o tempo obtido pela intersecção das retas da etapa CER e etapa DC conforme indicado por **VASCONCELLOS [2007]**.

Na determinação do teor dos compostos fenólicos verificou-se que houve maior obtenção de compostos fenólicos na isoterma de 70°C do que na isoterma de 50°C. Além disso, verificou-se que não houve variação significativa em ambas as isotermas com a variação da pressão do sistema. Já na determinação do teor de flavonóides verificou-se que não houve variação significativa em função da variação da pressão ou da temperatura.

Na determinação do teor de tocóis, observou-se que não houve detecção alguma de tocotrienóis nos extratos supercríticos em qualquer condição de extração utilizada nos experimentos. Já com relação aos tocoferóis, observou-se que apenas o γ -tocoferol apresentou concentração detectável em todas as condições de extração. Dessa maneira, o

perfil de concentração apresentado configura com a condição de 300 bar como ponto máximo em ambas as isotermas.

Na análise da atividade antioxidante as condições que apresentaram maior capacidade de inibição oxidativa foram os maiores valores de pressão, isto é, na pressão de 400 bar em ambas as temperaturas de 50 e 70°C. Com relação ao fator F1 verifica-se um perfil decrescente de 1 a 0 com o aumento da pressão do sistema, isto é, um aumento na capacidade de inibição dos compostos primários da reação em cadeia com o aumento da pressão. Já com relação ao fator F2 verifica-se valores próximos a 1 sem variações significativas com relação a variação da pressão do sistema o que demonstra uma baixa capacidade de inibição oxidativa dos produtos secundários da reação.

Os maiores rendimentos globais obtidos das isotermas determinadas permitiram identificar as melhores condições de processo para obtenção de compostos de interesse do extrato de torta de cupuaçu e, com isso, partiu-se para a etapa dos cálculos dos parâmetros cinéticos a fim de se obter informações necessárias para o custo de manufatura do extrato. Dessa maneira, o custo de manufatura específico mínimo (US\$ 6,90/kg extrato) obtido foi alcançado no tempo de extração de 60 minutos para o ensaio cinético de 300 bar e 50°C. Já para o ensaio cinético de 350 bar e 50°C o custo de manufatura específico mínimo foi de US\$ 5,74/kg extrato no decorrer de 70 minutos.

Portanto, tendo em vista as análises das isotermas de rendimento global, dos parâmetros cinéticos, dos custos e da composição química dos extratos supercríticos, verifica-se que a condição mais propícia para uma melhor relação custo/benefício e compostos de interesse, provavelmente encontra-se a 350 bar e 50°C, uma vez que o extrato apresenta boa atividade antioxidante, baixo custo e bom rendimento de extrato

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C., Association of Official Analytical Chemists' Official Methods of Analysis. 16^a ed. 3^a rev. Washington, 1997.

A.O.A.C., Association of Official Analytical Chemists' Official Methods of Analysis. AOAC Press, Arlington, VA, pp. 66–68, 2000.

A.O.C.S. (American Oil Chemists' Society). Official and tentative methods. 3^a ed. Champaign, 2004.

ADA Reports Position of the American Dietetic Association. **Functional Foods J.** ADA, (95):493, 1995.

AGUIAR, J. P. L.; VENTURIERI, G. A. Composição do chocolate caseiro de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (WILLD. EX. SPRENG) Schum.) **Acta Amazônica**, 18 (1-2): 3-8, 1988

AKOH, C. C.; MIN, D. B. Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology. New York: CRC Press, 2007.

AL-JABARI, M. Kinetic models of supercritical fluid extraction. **Journal of Separation Science.** V. 25, p. 477-489, 2002.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, vol. 66, n°1, p. 232-240, 2007.

AZEVEDO, A. B. A. et al. Extraction of fat from fermented Cupuaçu seeds with supercritical solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 27, p. 223-237, 2003.

AZEVEDO, A. B. A. **Extração e fracionamento da gordura de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) com fluidos supercríticos.** Campinas, 2001, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. 130 p.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies relativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BAUMANN, T. M.; WANNER, H. The 1,3,7,9-tetrametiluric acid content of cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum.). **Acta Amazônica**, v. 10, n. 2, p. 425.

BRAGA, M. E. M. **Obtenção de compostos bioativos de *Curcuma longa* L. e *Lippia alba* M. por tecnologia supercrítica: rendimento global, cinética de extração, composição química e aproveitamento do resíduo amiláceo.** Campinas, 2005, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 200 p.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes**. 1st. Ed. Darmstadt: Steinkopff, New York: Springer, 1994. 387 p.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application fo food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21-33, 2005.

CALZAVARA, B.B.G.; MULLER, C.H.; KAHWAGE, O.N.N. Fruticultura Tropical: o cupuaçuzeiro – cultivo, beneficiamento e utilização do fruto. EMBRAPA-CPATU: Belém, 1984. 101p.

CARVALHO Jr., R. N. **Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo**. Campinas, 2004, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 166 p.

CARVALHO, A. V.; GARCÍA, N. H. P.; AMAYA-FARFÁN, J. Physico-Chemical Properties of the Flour, Protein Concentrate, and Protein Isolate of the Cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum) Seed. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. 573-578, 2006.

CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 249-255, 2003.

CLIFFORD, T. **Fundamentals of Supercritical Fluids**. Oxford University Press Inc., New York, 1999. 210 p.

CUATRECASAS, J. Cacao and its allies a taxonomia revision of the genus *Theobroma*. **Bulletin of United States National Museum**, v. 35, n.6, p. 438-439. 1964.

DEL VALLE, J. M.; AGUILERA, J. M. Extracción con CO₂ a alta presión: fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos (review). **Food Science and Technology International**, v. 5, n. 1, p. 1-24, 1999.

DUKE, A. As espécies brasileiras de cacau (gênero *Theobroma* L.) na botânica sistemática e geográfica. **Rodriguesia**, v. 13, p. 265-279, 1940.

EGGERS, R. Supercritical fluid extraction (SFE) of oilseeds/lipids in natural products. In: **Supercritical fluid technology in oils and lipids chemistry**. Copyright AOCS press, Chapter 3, 1996.

FRIEDRICH, J. P. et al. Effect of moisture and particle size on the extractability of oils from seeds with supercritical CO₂. **JAOCs**, v. 61, n. 12, p. 1851-1856, 1984.

GIADA, M. L. R. **Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédone da semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) rajada**. São Paulo, 2006. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 206 p.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Copyright S.A., 8ed., 1991.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fibre analysis**. Agri-handbook: Agriculture Research Service, U. S. Dept. Agriculture, 1970, 375 p.

GOLDBERG, I. **Functional Foods: designer foods, pharmafoods, and nutraceuticals**. Chapman & Hall, New York, 1994, 571p.

GONDIM, T. M. S.; THOMAZINI, M. J.; CAVALCANTE, M. J. B.; SOUZA, J. M. L. **Aspectos da produção de cupuaçu**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2001, 43 p.

GUNDUC, N.; EL, S. N. Assessing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on *in vitro* low-density lipoprotein oxidation. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, p. 2591-2595, 2003.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49, p. 1341-1348, 1995

HARTMANN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 8, p. 475-476, 1973.

HOFFMANN, G. **The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products**. Academic Press Limited 24-28 Oval Road London NW1 7DX. Cap. 2, 4, 5, p. 29-111, 140-200, 203-264, 1989.

HUANG, L. H.; WANG, B. G. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4993-4997, 2004.

HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, p. 23-30, 2002.

IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Unit operations in food engineering**. New York: CRC Press, 2003.

IBGE (1996). Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp. Acesso em: 12 dez. 2008.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes de romã (*Punica granatum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

KALIL, A. C. **Manual Básico de Nutrição**. São Paulo: Instituto de Saúde, 1975.

KASUYA, F. New Solvent: supercritical fluid. **Kobe Steel, Ltd.** SFE010E.BMP. 2007. Altura: 316 pixels. Largura: 321 pixels. 9,38 Kb. Formato bitmap. Disponível em: < <http://www.kobelco.co.jp/eng/p14/sfe01.htm>>. Acesso em: 14 set. 2007.

KWIATKOWSKI, J. R.; MCALOON, J. A.; TAYLOR, F.; JOHNSTON, J. B. Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process. **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 288-296, 2006.

LEAL, P. F. Obtenção de extratos vegetais com propriedades funcionais via tecnologia supercrítica: uso de CO₂ e CO₂ + H₂O. Campinas, 2005, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 190 p.

LEAL, P. F.; BRAGA, M. E. M.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O. M.; MERIELES, M. A. A. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. **J. Agric. Food Chem.** V. 51, p. 2520-2525, 2003.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. São Paulo, 2008. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 182 p.

LOCATELLI, M. et al. Estudo do comportamento produtivo do cupuaçuzeiro em sistemas agroflorestais. In: **WORKSHOP SOBRE AS CULTURAS DE CUPUAÇU E PUPUNHA NA AMAZÔNIA**, 1, 1996, Manaus. Anais... Manaus: EMBRAPA/CPAA, 1996.p.160 (Documentos, 6).

LUQUE DE CASTRO, M. D. et al. **Analytical Supercritical Fluid Extraction**. Heidelberg: Springer, 1994. 321 p.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, p. 1-10, 1998.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MARX, F. E.; MAIA, J. G. S. Purine alkaloids in seeds of theobroma species from the Amazon. **Zeitschrift-fuer-Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung**, v. 193, n 5, p. 460-461, 1991.

MCHUGH, M. A., KRUKONIS, V. J. **Supercritical fluid extraction: principles and practice**. 2nd Ed. Boston, MA: Butterworth-Heinemann, 1994. 512 p.

MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001-2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, p. 321-330, 2003

MILLER, H. E. Simplified method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MOURA, L. S. **Obtenção por extração supercrítica do extrato de Funcho (*Foeniculum vulgare*): determinação das isotermas de rendimento global, de parâmetros cinéticos e do equilíbrio de fases**. Campinas, 2004, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 141p.

MULLER, C. H. et al. **A cultura do cupuaçu**. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Belém: Embrapa-CPATU, 1995, 61 p. (Embrapa-SPI. Coleção plantar, 24; Série Vermelha. Fruteiras).

NASCIMENTO, M. A. et al. *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae): preliminary study of its antioxidant activity. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 12, p. 1387-1391, 2006.

NAZARÉ, R.F.R. de; BARBOSA, W.C.; VIEGAS, R.M.F. **Processamento das sementes de cupuaçu para obtenção de cupulate**. EMBRAPA-CPATU: Belém, 1990, 38p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 108).

NIST Mass Spec Data Center, S.E. Stein, director, "Retention Indices" in **NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69**, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, June 2005, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899 (<http://webbook.nist.gov>).

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Da UFRGS/ Ed. Da UFSC. 2004.

PASSMORE, R.; NICOL, B. M. & RAO, M. N. **Manual sobre Necessidades Nutricionales del Hombre**. Ginebre: OMS, 1975.

PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Evaluation of global yield, composition, antioxidant activity and cost of manufacturing of extracts from lemon verbena (*Aloysia triphylla* [L'hérit.] britton) and mango (*Mangifera indica* L.) leaves. **Journal of Food Process Engineering**, v. 30, p. 150-173, 2007.

QUISPE-CONDORI, S. et al. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 36, p. 40-48, 2005.

QUISPE-CONDORI, S. Q. **Determinação de parâmetros de processo nas diferentes etapas da extração supercrítica de produtos naturais**. Campinas, 2005, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 203 p.

RICE-EVANS, C. A. Measurement of total antioxidant activity as a marker of antioxidant status *in vivo*: procedures and limitations. **Free Radical Research**, v. 33, p. 59-66, 1999.

ROCHA NETO, O. G.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. C.; CARVALHO, J. E. U.; LAMEIRA, O. A.; SOUZA, A. R.; MARADIAGA, J. B. G. Cupuaçu. In: **Principais productos extrativos da Amazônica e seus coeficientes técnicos**. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Centro Nacional de Desenvolvimento Sustentado das Populações Tradicionais, 1999. p. 24-40.

RODRIGUES, V. M. et al. Determination of the solubility of extracts from vegetable raw material in pressurized CO₂: a pseudo-ternary mixture formed by cellulosic structure + solute + solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, p. 21-36, 2002.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 235-240, 2005.

ROZZI, N. L.; SINGH, R. K. Supercritical Fluids and the Food Industry. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf**, v. 1, p. 33-44, 2002.

SANTOS, J. L. **Projeto de uma unidade de extração supercritical empregando simulador de processos**. Belém, 2007. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Pará.

SCHIMDT, S.; POKORNY, J. Potential application of oilseeds as source of antioxidants for food lipids – a review. **Czech Journal of Food Sciences**, vol. 23, n°3, p. 93-102, 2005.

SEBASTIÁN, S. L. et al. Dearomatization of Antioxidant Rosemary Extracts by Treatment with Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.46, p.13, 1998.

SHAHIDI, F. et al. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, p. 67-103, 1992.

SILVA, W. G. **Gordura de cupuaçu, sucedâneo a manteiga de cacau**. São Paulo, 1988. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, xxx p.

SINGLETON, V. L., & ROSSI, J. A. jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144–158.

SOUZA, A. G. C.; SILVA, S. E. L.; TAVARES, A. M.; RODRIGUES, M. R. L. **A cultura do Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng))**. Manaus: Embrapa Amazônica Ocidental, 1999. 39 p. Embrapa Amazônica Ocidental. Circular Técnica, 2).

SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, p. 35-52, 2005.

SVILAAS, A. et al. Intakes of antioxidants in coffee, and vegetables are correlated with plasma carotenoid in humans. **Journal of Nutrition**, v. 3, n. 134, p. 562-567, 2004.

TAKEUCHI, T. M.; LEAL, P. F.; ROSA, P. T.V.; MEIRELES, M. A. A. Study of the phase equilibrium formed inside the flash tank used at the separation step of a supercritical fluid extraction unit. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, p. 447-459, 2008.

TAYLOR, L. T. **Supercritical fluid extraction**. John Wiley & Sons Inc., New York, 1996. 181 p.

- TRINDADE, R. A. **Influência de antioxidantes naturais sobre o perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por Co^{60} e aceleradores de elétrons.** São Paulo, 2007. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares Universidade de São Paulo, 112 p.
- TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v. 103, p 1494-1501, 2007.
- TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, synthesis, and design of chemical process.** 1st ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 1998. 848 p.
- TZIA, C.; LIADAKIS, G. **Extraction optimization in food engineering.** New York: Marcel Dekker, Inc., 2003.
- VASCONCELLOS, C. M. C. **Extração supercrítica dos óleos voláteis de *Achyrocline satureioides* (Macela) e *Vetiveria zizanioides* (Vetiver): determinação da cinética de extração e estimativa de custos de manufatura.** Campinas, 2007, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 114p.
- VASCONCELOS, M. N. L., SILVA, M. L. da, MAIA, J. G. S., GOTTLIEB, O. R. Estudo químico de sementes do cupuaçu. **Acta Amazonica**, v. 5, p. 293-295, 1975.
- VELASCO, R. J., VILLADA, H. S., CARRERA, J. E. Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria. **Información Tecnológica**, v. 18, n. 1, p. 53-65, 2007.
- VENTURIERI, G. A. **Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamentos.** Belém: Clube do Cupuaçu, 1993.108 p.
- VENTURIERI, G. A. **Floral biology of cupuassu [*Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex. Sprengel Schumann)].** Reading: 1994. 211p. Ph.D Thesis. University of Reading, UK, Reading.
- VENTURIERI, G. A. **Tudo sobre o cupuaçu (Banco de Dados).** Disponível em: www.ufpa/centros/ccb/citogenetica/cupu.htm, 1998, Acesso em: 15 out. 2007.
- VENTURIERI, G. A.; RONCHI-TELES, B.; FERRAZ, I. D. K.; LOURDE, M.; HAMADA, N. **Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento.** Belém: Clube do Cupuaçu, 1993. 108 p.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: a thin layer chromatography.** Atlas. 2nd ed., p. 384, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1996.
- YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 377-382,1995.
- ZHISHEN, T.; WU, J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

8 APÊNDICE

APÊNDICE A - DADOS DAS ISOTERMAS DE RENDIMENTO GLOBAL

Tabela 8.1 - Dados do rendimento global obtido para a isoterma de 50°C.

ID	M.P. (g)	Frasco (g)	Frasco + Extrato (g)	Frasco ^L (g)	(Frasco + Ext.) ^L (g)	Extrato (g)	Rend. (%)	Rend. Médio (%)	DP
350/50.I	20,0009	49,6720	53,0485	50,4618	50,4834	3,3981	16,99	17,19	± 0,28
350/50.II	20,0124	50,5833	54,0548	51,9480	51,9559	3,4794	17,39		
250/50.I	20,0105	50,7331	53,5581	53,1396	53,2229	2,9083	14,53	14,21	± 0,46
250/50.II	20,0205	49,5892	52,3683	51,4540	51,4540	2,7791	13,88		
300/50.I	20,0230	52,6001	55,9632	50,2350	50,3684	3,4965	17,46	17,51	± 0,07
300/50.II	20,0134	50,0495	53,5163	51,0415	51,0898	3,5151	17,56		
200/50.I	19,9977	50,5651	52,7231	50,3340	50,3812	2,2052	11,03	9,91	± 1,58
200/50.II	20,0168	51,0403	52,7999	52,4234	52,4234	1,7596	8,79		
400/50.I	20,0502	52,4661	55,9821	53,1376	53,1580	3,5364	17,64	17,42	± 0,30
400/50.II	20,0282	49,9709	53,4175	51,3008	51,3008	3,4466	17,21		

Tabela 8.2 - Dados do rendimento global obtido para a isoterma de 70°C.

ID	M.P. [g]	Frasco [g]	Frasco + Extrato [g]	Frasco ^L [g]	(Frasco + Ext.) ^L [g]	Extrato [g]	Rend. %	Média Rend. %	DP
350/70.I	20,0314	50,3312	53,8697	52,4220	52,4281	3,5446	17,70	17,68	± 0,02
350/70.II	20,0113	50,6746	54,2105	51,4259	51,4259	3,5359	17,67		
400/70.I	20,0061	50,2316	53,7002	49,5861	49,6080	3,4905	17,45	17,53	± 0,12
400/70.II	20,0744	50,3351	53,8703	51,4235	51,4243	3,536	17,61		
200/70.I	20,0041	50,4062	51,4014	49,6031	49,6452	1,0373	5,19	4,84	± 0,48
200/70.II	20,0144	51,4181	52,3192	51,9521	51,9521	0,9011	4,50		
300/70.I	20,0106	53,1368	56,6681	52,4231	52,4534	3,5616	17,80	17,32	± 0,67
300/70.II	20,0101	51,9793	55,3083	51,3007	51,3424	3,3707	16,84		
250/70.I	20,0070	48,8447	51,0375	52,4248	52,4908	2,2588	11,29	10,63	± 0,93
250/70.II	20,0137	51,5234	53,5194	50,4597	50,4597	1,996	9,97		

APÊNDICE B - DADOS DOS ENSAIOS CINÉTICOS

Tabela 8.3 - Dados do ensaio cinético a 300 bar e 50°C.

t (min.)	F (g)	F + Ext (g)	Ext (g)	Ext ^{ac} (g)	CO ₂ (m ³)	DCO ₂ (m ³)	DCO ₂ (kg)	CO ₂ ^{ac} (kg)	S/F (b.u.)	Rend. (%)	Rend. ^{ac} (%)
0	0,00	0,00	0,00	0,00	37,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	50,91	51,35	0,44	0,44	37,83	0,06	0,09	0,09	4,70	2,20	2,20
20	48,90	49,37	0,47	0,91	37,87	0,04	0,07	0,16	8,07	2,37	4,57
30	49,42	49,78	0,36	1,27	37,92	0,04	0,07	0,24	11,79	1,78	6,35
40	49,21	49,53	0,32	1,59	37,96	0,05	0,08	0,31	15,67	1,60	7,95
50	52,19	52,47	0,28	1,87	38,01	0,04	0,07	0,39	19,39	1,38	9,33
60	51,00	51,22	0,22	2,09	38,05	0,04	0,07	0,46	22,85	1,12	10,45
70	51,91	52,11	0,21	2,30	38,09	0,04	0,06	0,52	26,06	1,03	11,48
80	51,32	51,51	0,19	2,49	38,13	0,04	0,07	0,59	29,44	0,95	12,43
90	49,83	49,98	0,15	2,64	38,17	0,04	0,07	0,66	32,98	0,74	13,18
100	47,80	47,94	0,14	2,78	38,21	0,04	0,07	0,73	36,28	0,72	13,89
110	48,60	48,73	0,13	2,91	38,25	0,04	0,07	0,80	39,74	0,65	14,54
120	52,57	52,68	0,11	3,02	38,29	0,04	0,07	0,86	43,20	0,56	15,10
130	51,83	51,92	0,09	3,11	38,33	0,04	0,07	0,93	46,58	0,46	15,56
140	52,14	52,21	0,08	3,19	38,37	0,04	0,07	1,00	49,96	0,38	15,94
150	51,28	51,33	0,06	3,25	38,41	0,04	0,07	1,07	53,33	0,28	16,23
160	50,74	50,78	0,04	3,29	38,45	0,04	0,06	1,13	56,37	0,19	16,42
170	50,64	50,68	0,03	3,32	38,48	0,04	0,06	1,19	59,58	0,16	16,57
180	50,82	50,85	0,02	3,34	38,52	0,04	0,07	1,26	62,88	0,12	16,70
190	52,51	52,52	0,01	3,36	38,56	0,04	0,06	1,32	65,92	0,07	16,77
200	52,36	52,37	0,01	3,37	38,60	0,04	0,06	1,38	69,13	0,07	16,84

Tabela 8.4- Dados do ensaio cinético a 350 bar e 50°C.

t (min.)	F (g)	F + Ext (g)	Ext (g)	Ext ^{ac} (g)	CO ₂ (m ³)	DCO ₂ (m ³)	DCO ₂ (kg)	CO ₂ ^{ac} (kg)	S/F (b.u.)	Rend. (%)	Rend. ^{ac} (%)
0	0,00	0,00	0,00	0,00	37,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	49,98	50,22	0,24	0,24	37,83	0,06	0,09	0,09	4,64	1,22	1,22
20	51,99	52,49	0,50	0,74	37,87	0,04	0,07	0,16	7,98	2,48	3,70
30	52,14	52,60	0,46	1,20	37,92	0,04	0,07	0,23	11,66	2,30	6,00
40	51,69	52,21	0,53	1,73	37,96	0,05	0,08	0,31	15,50	2,63	8,63
50	50,57	51,00	0,43	2,16	38,01	0,04	0,07	0,38	19,18	2,17	10,80
60	50,02	50,36	0,35	2,51	38,05	0,04	0,07	0,45	22,60	1,74	12,54
70	49,54	49,81	0,27	2,78	38,09	0,04	0,06	0,52	25,78	1,35	13,89
80	52,64	52,86	0,22	3,00	38,13	0,04	0,07	0,58	29,12	1,09	14,97
90	49,99	50,16	0,18	3,17	38,17	0,04	0,07	0,65	32,62	0,88	15,85
100	50,64	50,77	0,13	3,30	38,21	0,04	0,07	0,72	35,88	0,63	16,48
110	49,38	49,47	0,09	3,39	38,25	0,04	0,07	0,79	39,31	0,45	16,93
120	48,71	48,79	0,08	3,47	38,29	0,04	0,07	0,85	42,73	0,42	17,35
130	52,38	52,43	0,05	3,52	38,33	0,04	0,07	0,92	46,07	0,25	17,60
140	49,91	49,95	0,04	3,56	38,37	0,04	0,07	0,99	49,41	0,20	17,80
150	50,72	50,75	0,03	3,59	38,41	0,04	0,07	1,06	52,75	0,15	17,95
160	50,31	50,32	0,02	3,61	38,45	0,04	0,06	1,12	55,76	0,08	18,03
170	51,00	51,02	0,02	3,63	38,48	0,04	0,06	1,18	58,93	0,11	18,13
180	49,37	49,38	0,00	3,63	38,52	0,04	0,07	1,24	62,19	0,02	18,15
190	50,67	50,67	0,00	3,63	38,56	0,04	0,06	1,30	65,20	0,02	18,16
200	52,51	52,51	0,01	3,64	38,60	0,04	0,06	1,37	68,37	0,02	18,19

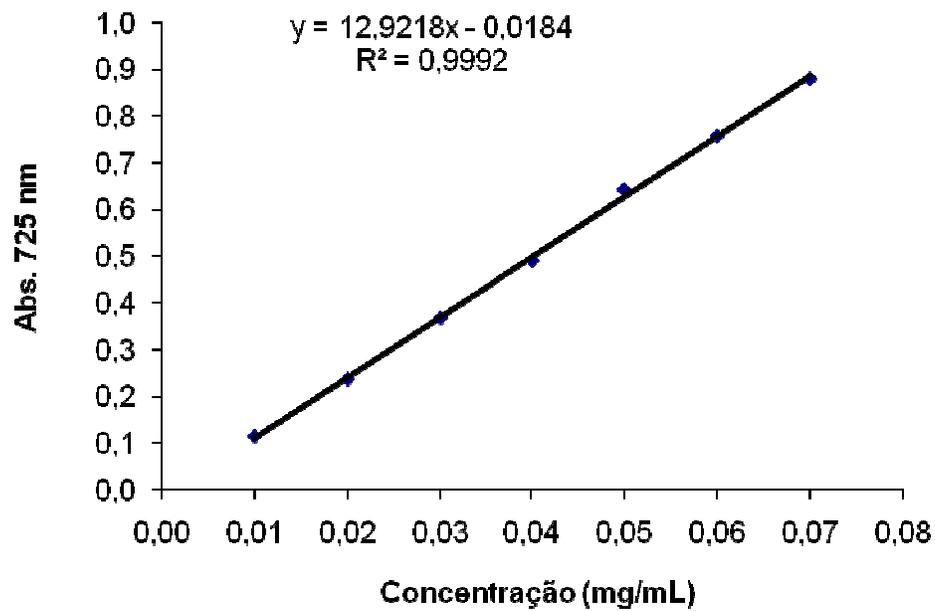
APÊNDICE C - DADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS

Figura 8.1 - Curva de calibração do ácido gálico (mg/mL).

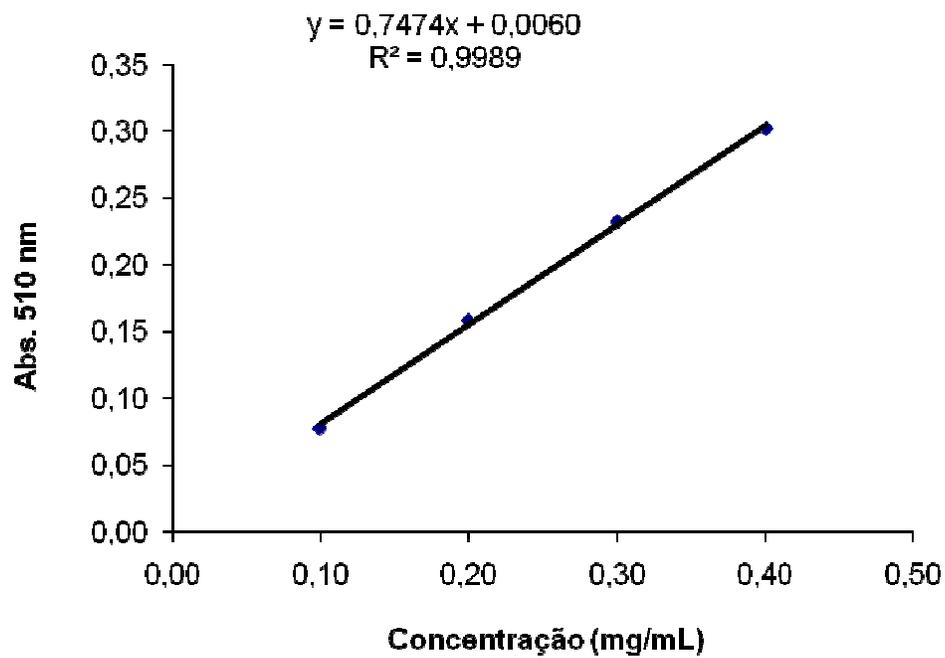
APÊNDICE D - DADOS DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES

Figura 8.2 - Curva de calibração em equivalentes de rutina (mg/mL).

APÊNDICE E - DADOS DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Tabela 8.5 - Dados do padrão BHT e do controle em triplicata para a análise de atividade antioxidante.

t (min)	BHT1	BHT2	BHT3	BHT4	BHT5	BHT6	C1	C2	C3
0	0,9479	0,9772	0,9802	0,9859	0,9822	0,9775	0,9000	0,9000	0,9000
15	0,9365	0,9388	0,9411	0,9533	0,9515	0,9529	0,6153	0,7014	0,7014
30	0,9259	0,9324	0,9303	0,9398	0,9430	0,9439	0,4718	0,5945	0,5945
45	0,9179	0,9196	0,9189	0,9264	0,9377	0,9348	0,3443	0,4728	0,4728
60	0,9153	0,9045	0,8984	0,9136	0,9239	0,9275	0,2464	0,3657	0,3657
75	0,8726	0,8931	0,8855	0,8969	0,9088	0,9155	0,1974	0,2572	0,2572
90	0,8301	0,8655	0,8686	0,8835	0,8990	0,9100	0,1632	0,1720	0,1720
105	0,7883	0,8493	0,8540	0,8700	0,8890	0,9051	0,1376	0,1093	0,1093
120	0,7589	0,8387	0,8449	0,8645	0,8849	0,9011	0,1176	0,0745	0,0745

Tabela 8.6 - Dados da atividade antioxidante das amostras para cada uma das cinco pressões (em duplicata) na temperatura de 50°C.

t (min)	200/50.I	200/50.II	250/50.I	250/50.II	300/50.I	300/50.II	350/50.I	350/50.II	400/50.I	400/50.II
0	1,00	0,98	0,96	0,95	0,99	0,97	0,92	0,97	0,95	0,95
15	0,69	0,71	0,67	0,58	0,67	0,59	0,61	0,72	0,88	0,72
30	0,59	0,63	0,61	0,51	0,58	0,52	0,55	0,65	0,85	0,66
45	0,50	0,54	0,51	0,44	0,49	0,42	0,46	0,56	0,79	0,57
60	0,41	0,46	0,45	0,38	0,40	0,36	0,39	0,48	0,73	0,48
75	0,33	0,41	0,41	0,35	0,33	0,31	0,35	0,41	0,68	0,42
90	0,24	0,36	0,38	0,31	0,28	0,27	0,33	0,34	0,63	0,37
105	0,15	0,28	0,29	0,23	0,21	0,24	0,28	0,27	0,58	0,31
120	0,08	0,21	0,22	0,17	0,15	0,17	0,22	0,20	0,52	0,27

Tabela 8.7 - Dados da atividade antioxidante das amostras para cada uma das cinco pressões (em duplicata) na temperatura de 70°C.

t (min)	200/70.I	200/70.II	250/70.I	250/70.II	300/70.I	300/70.II	350/70.I	350/70.II	400/70.I	400/70.II
0	0,98	0,99	1,00	0,97	1,00	0,90	1,00	1,00	1,00	1,00
15	0,60	0,62	0,65	0,72	0,75	0,70	0,80	0,64	0,69	0,78
30	0,49	0,54	0,56	0,57	0,62	0,61	0,72	0,58	0,63	0,72
45	0,42	0,47	0,46	0,49	0,53	0,53	0,64	0,53	0,57	0,67
60	0,35	0,42	0,39	0,43	0,46	0,45	0,59	0,48	0,52	0,62
75	0,29	0,34	0,29	0,33	0,38	0,37	0,54	0,44	0,47	0,57
90	0,22	0,28	0,22	0,27	0,36	0,30	0,47	0,40	0,43	0,52
105	0,15	0,22	0,14	0,21	0,38	0,23	0,42	0,36	0,37	0,49
120	0,10	0,19	0,08	0,16	0,39	0,17	0,37	0,33	0,33	0,46

APÊNDICE F - DADOS DO TEOR DE TOCÓIS



Figura 8.3 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 200 bar e 50°C.



Figura 8.4 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 250 bar e 50°C.

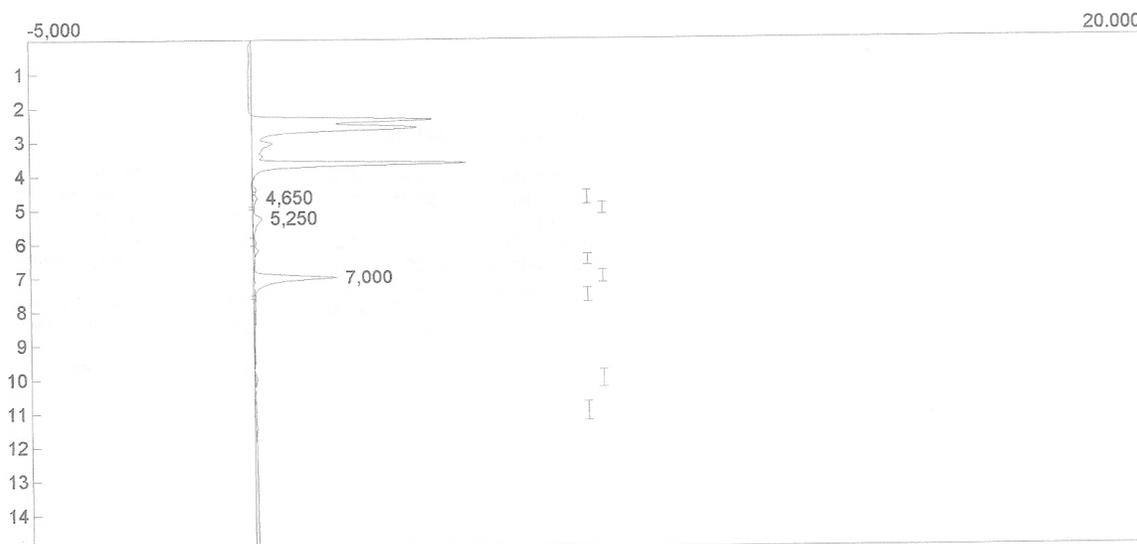


Figura 8.5 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 300 bar e 50°C.

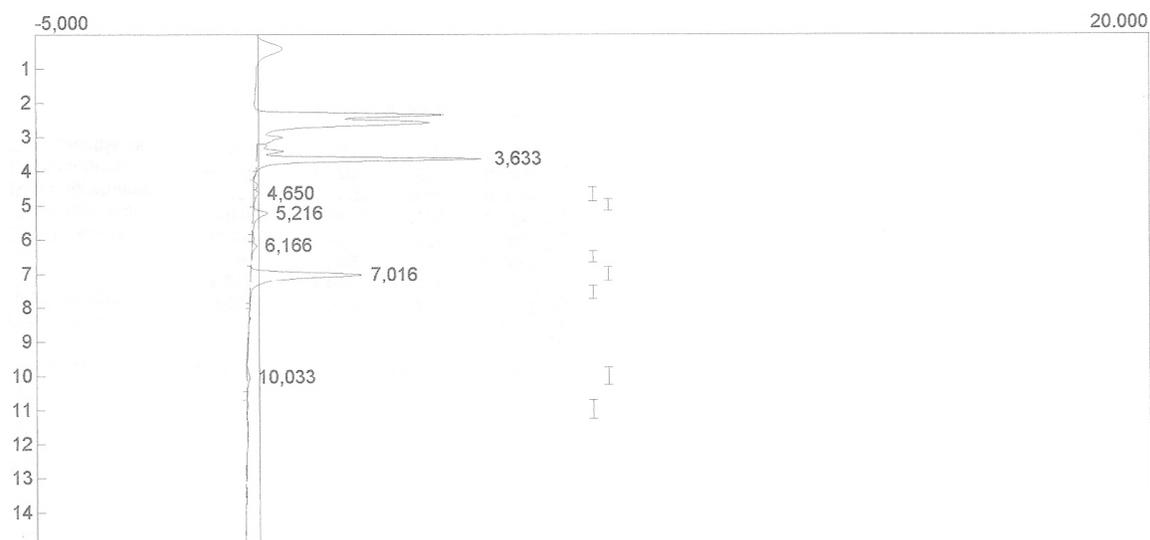


Figura 8.6 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 350 bar e 50°C.

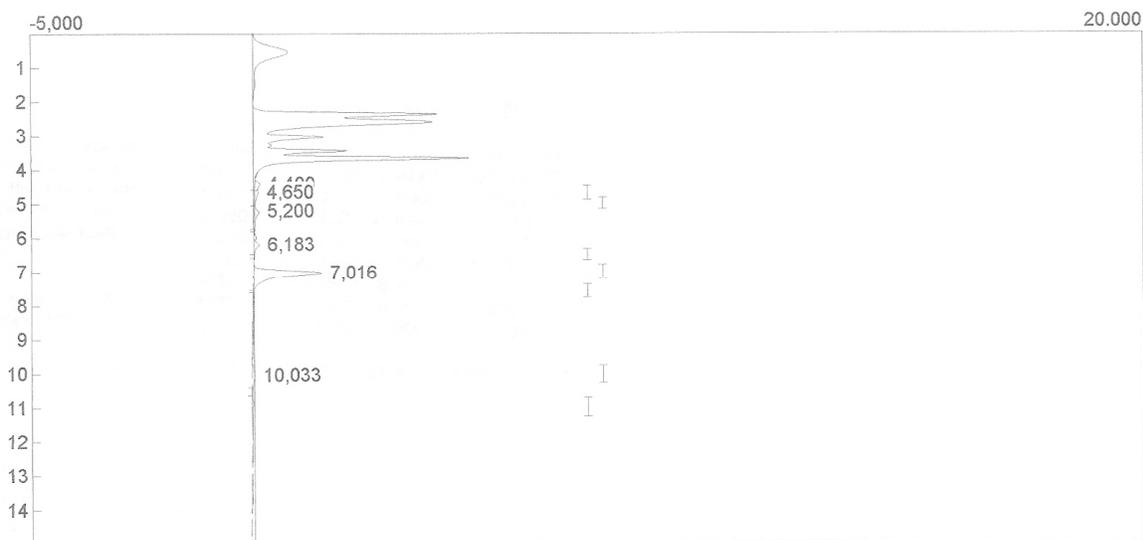


Figura 8.7 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 400 bar e 50°C.



Figura 8.8 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 200 bar e 70°C.

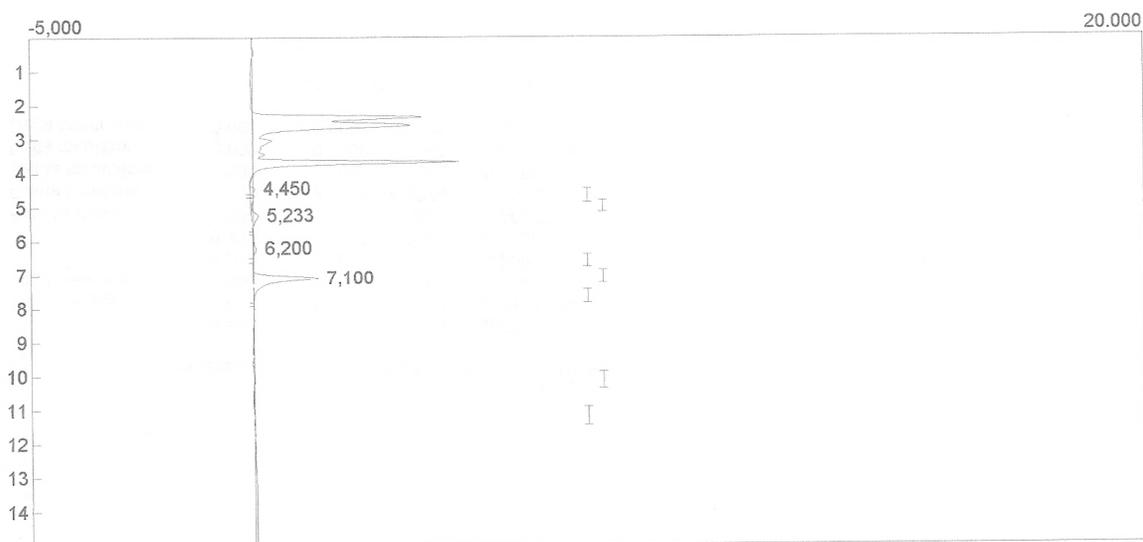


Figura 8.9 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 250 bar e 70°C.

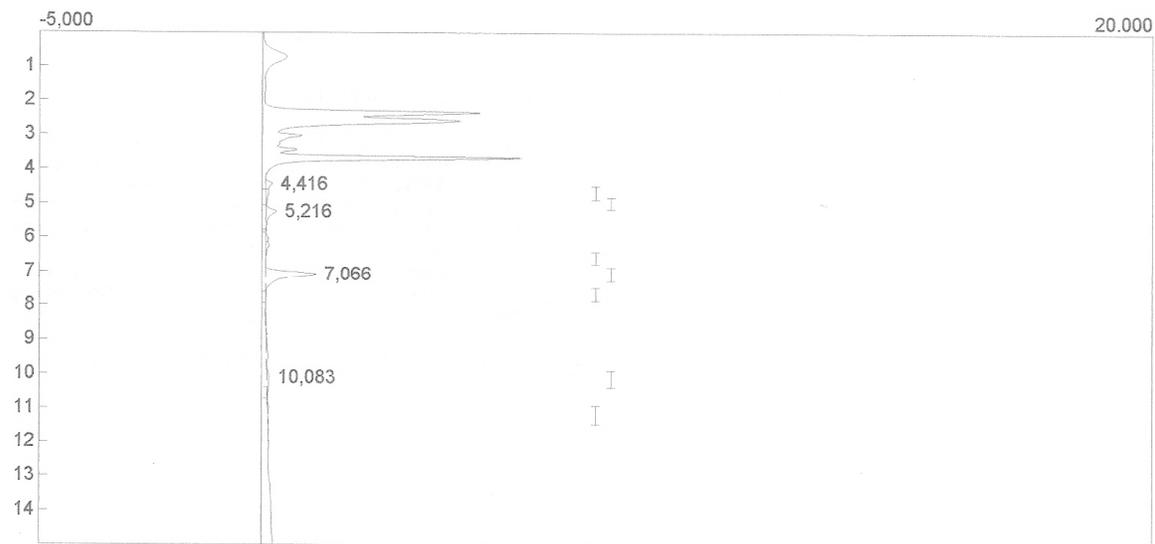


Figura 8.10 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 300 bar e 70°C.



Figura 8.11 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 350 bar e 70°C.

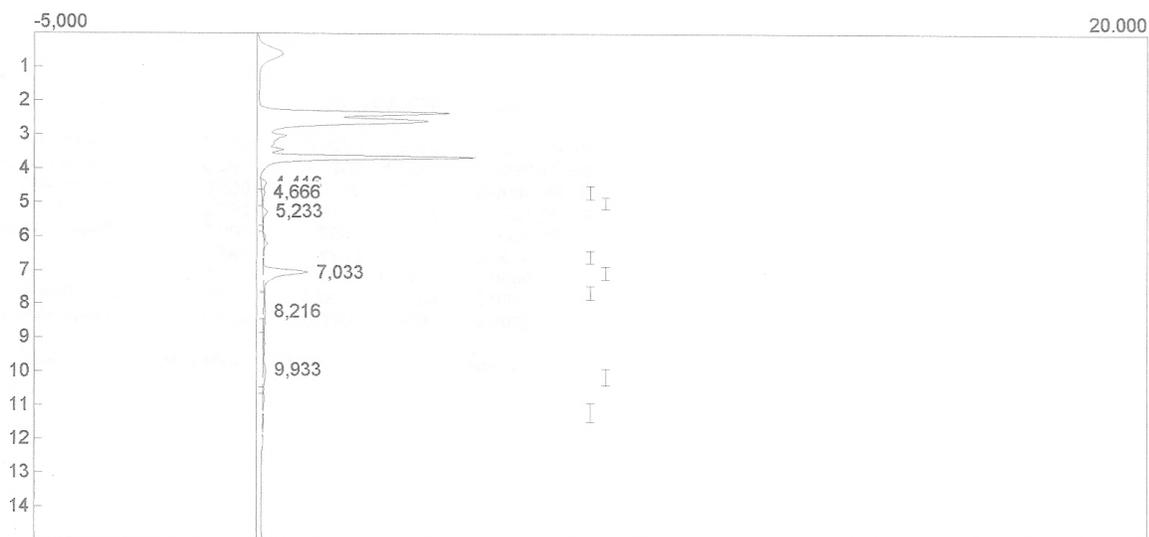
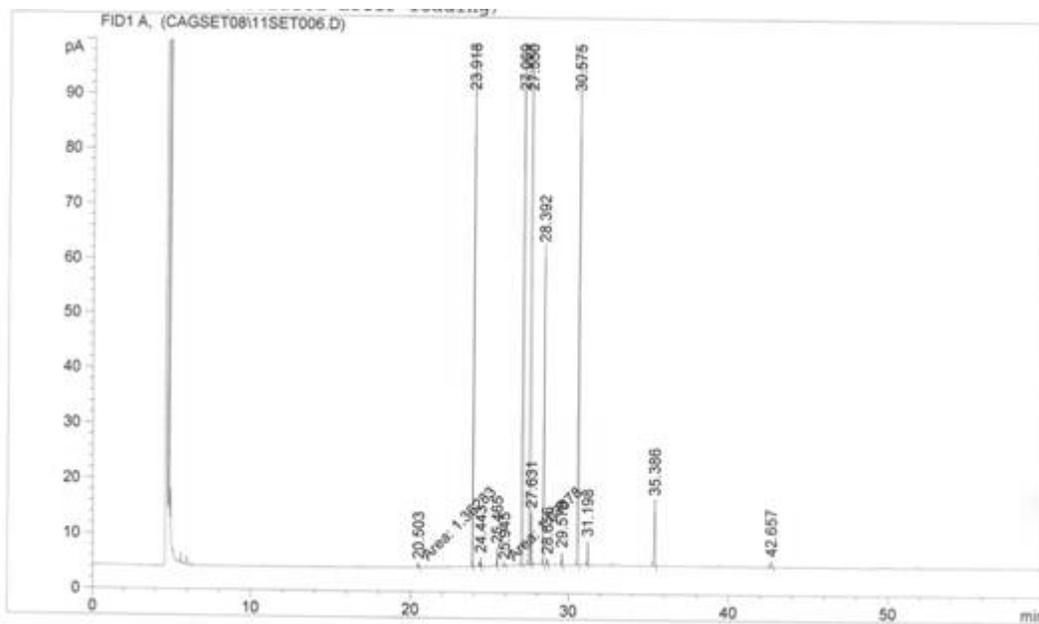
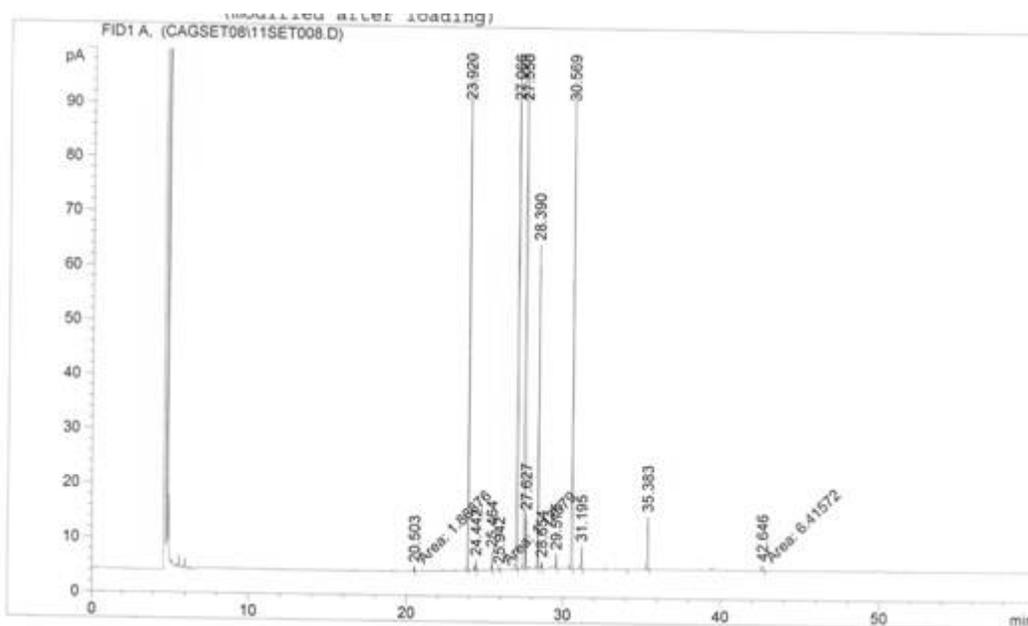


Figura 8.12 - Dados referentes à composição do teor de tocóis para a condição 400 bar e 70°C.

APÊNDICE G - DADOS DE COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS**Figura 8.13** - Cromatograma obtido para a condição de extração de 200 bar e 50°C.**Figura 8.14** - Cromatograma obtido para a condição de extração de 250 bar e 50°C.

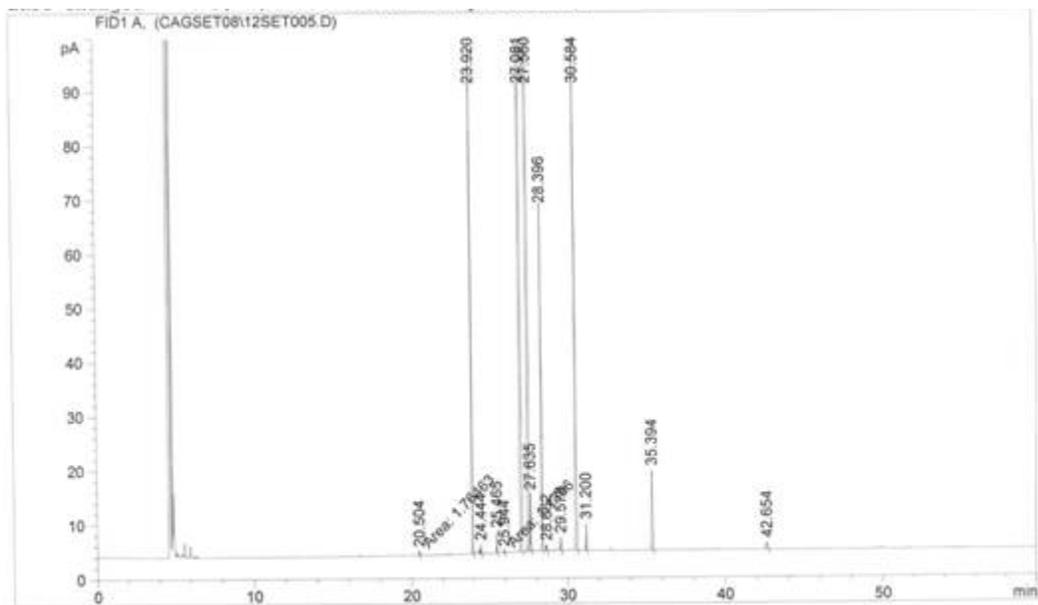


Figura 8.15 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 300 bar e 50°C.

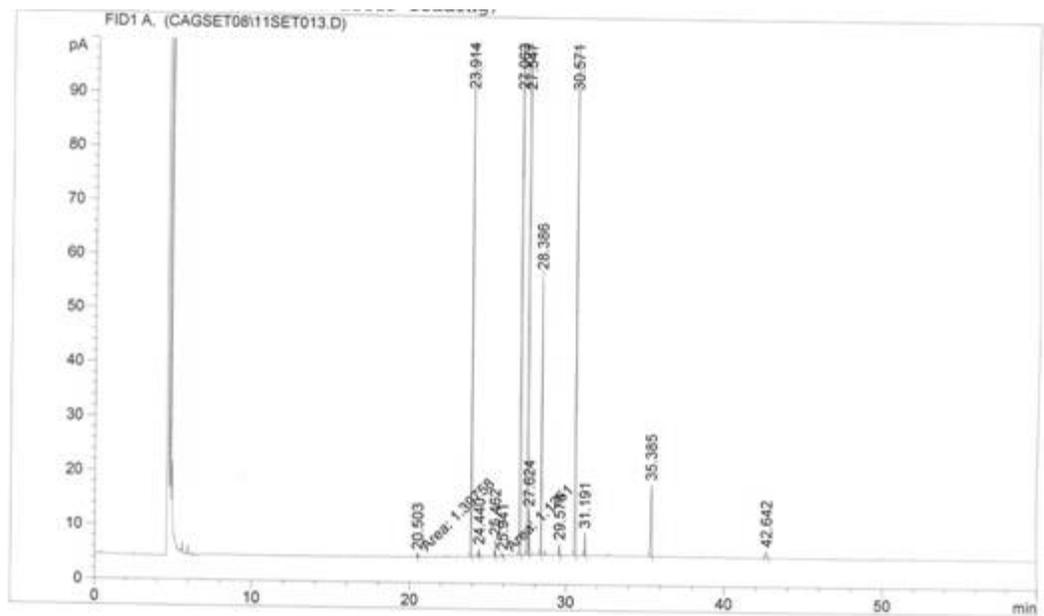


Figura 8.16 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 350 bar e 50°C.

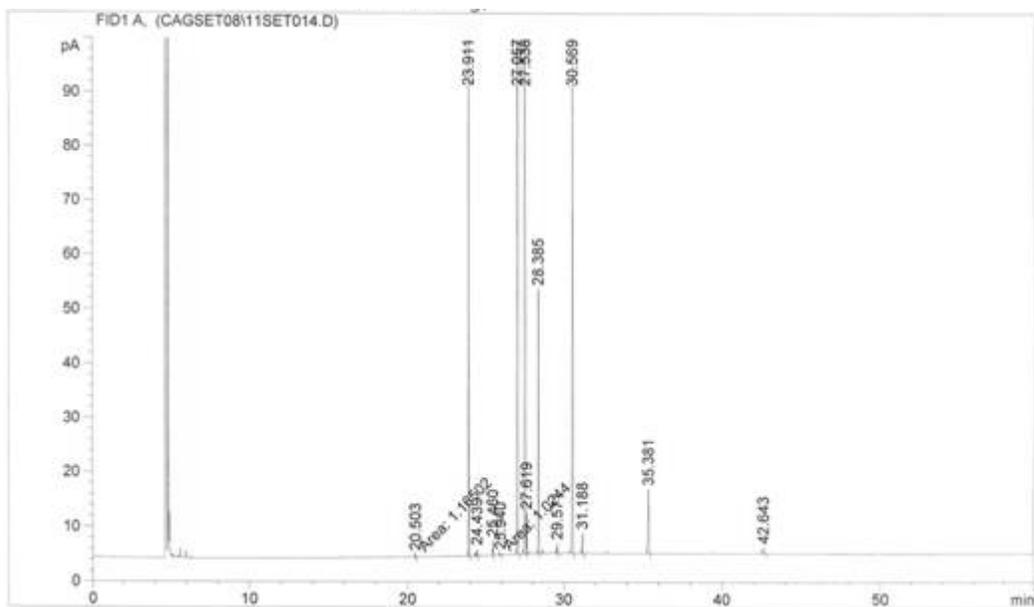


Figura 8.17 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 400 bar e 50°C.

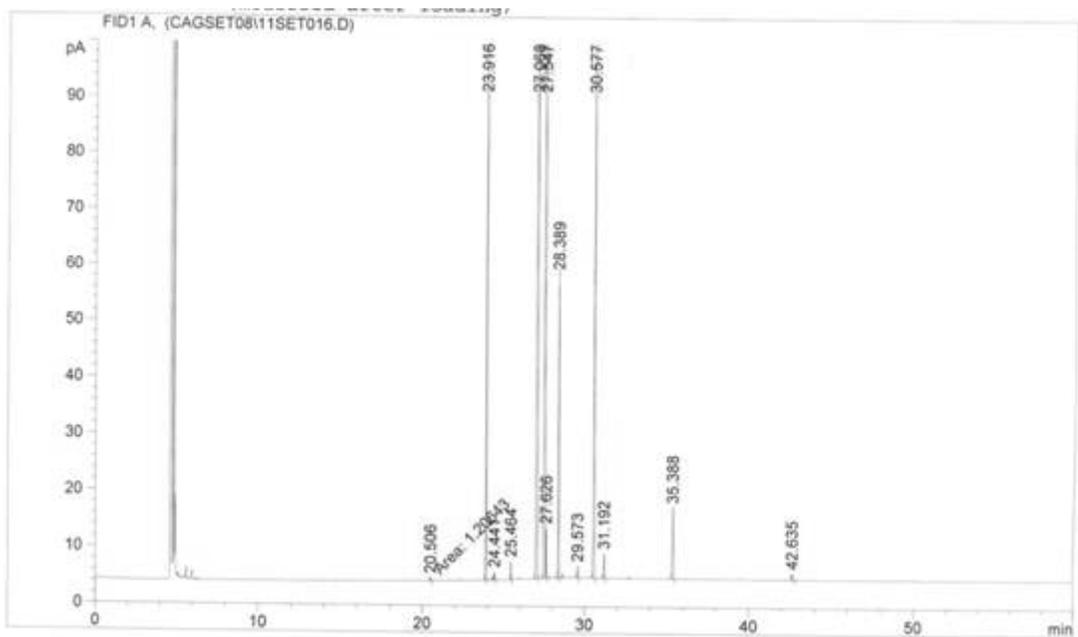


Figura 8.18 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 200 bar e 70°C.

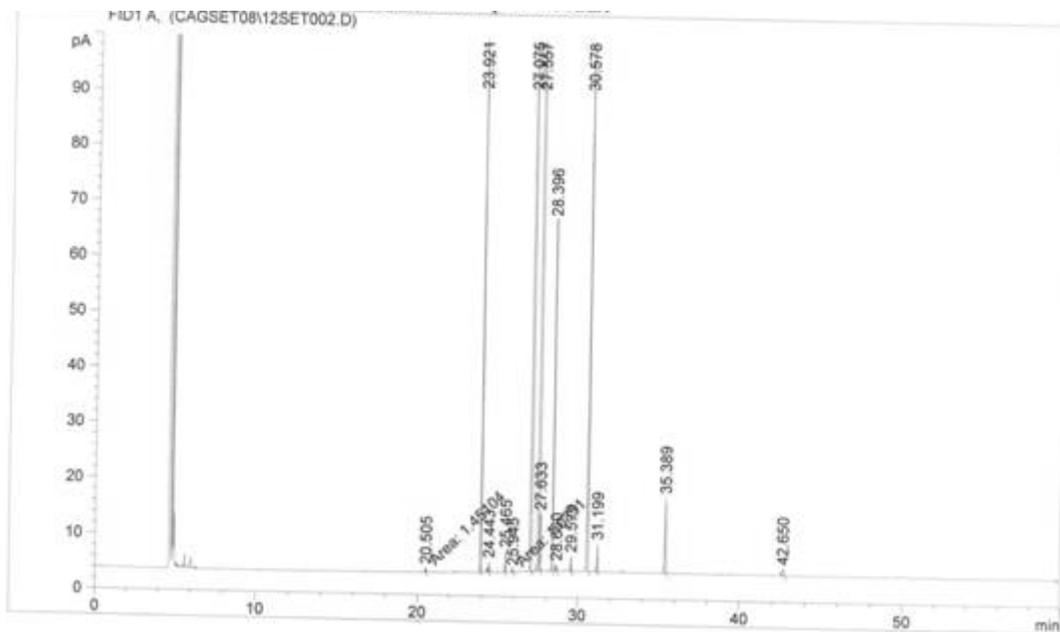


Figura 8.19 - Cromatograma realizado para a condição de extração de 250 bar e 70°C.

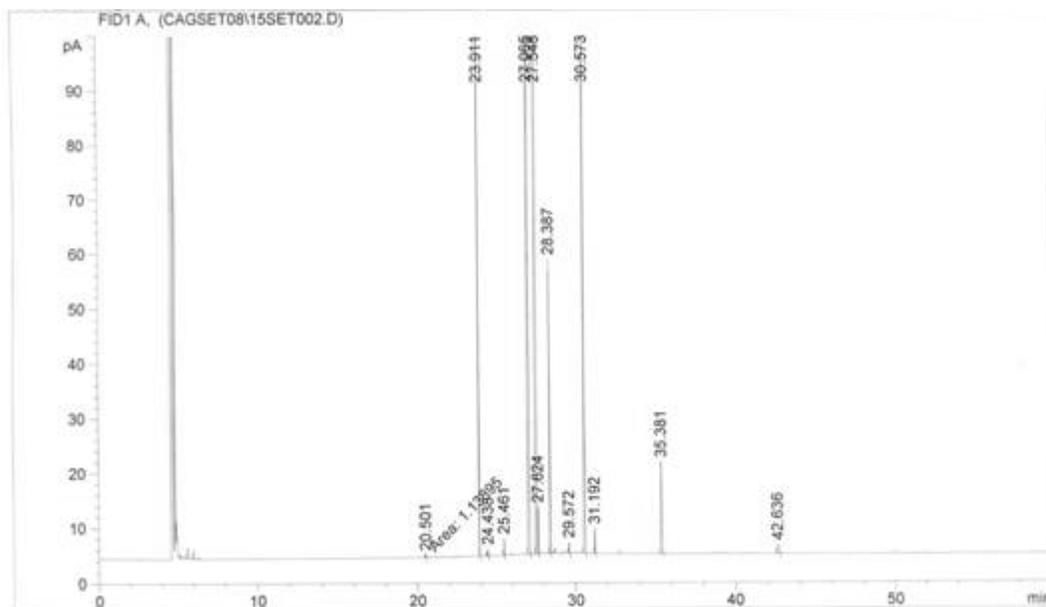


Figura 8.20 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 300 bar e 70°C.

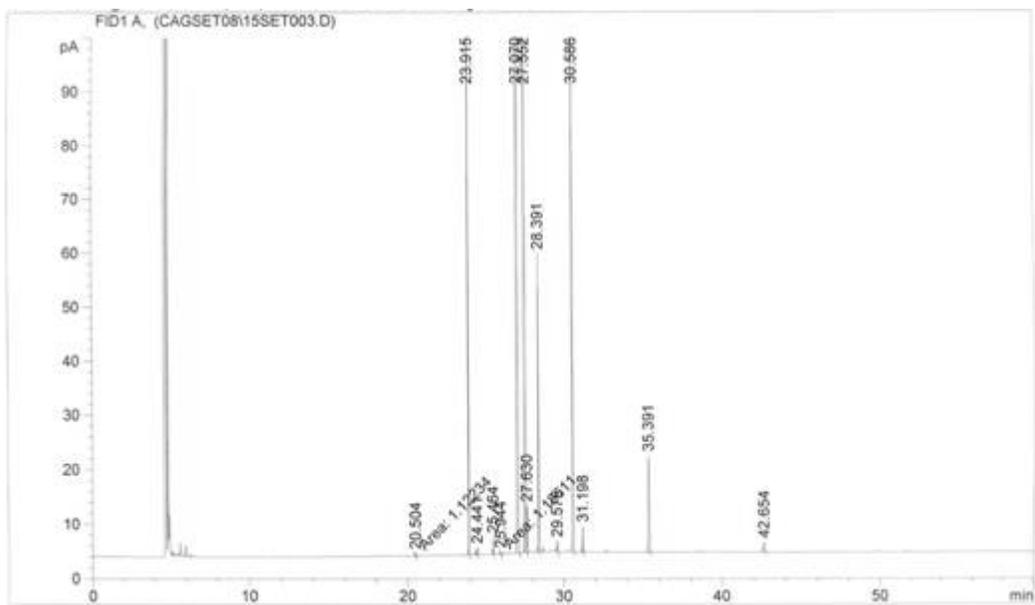


Figura 8.21 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 350 bar e 70°C.

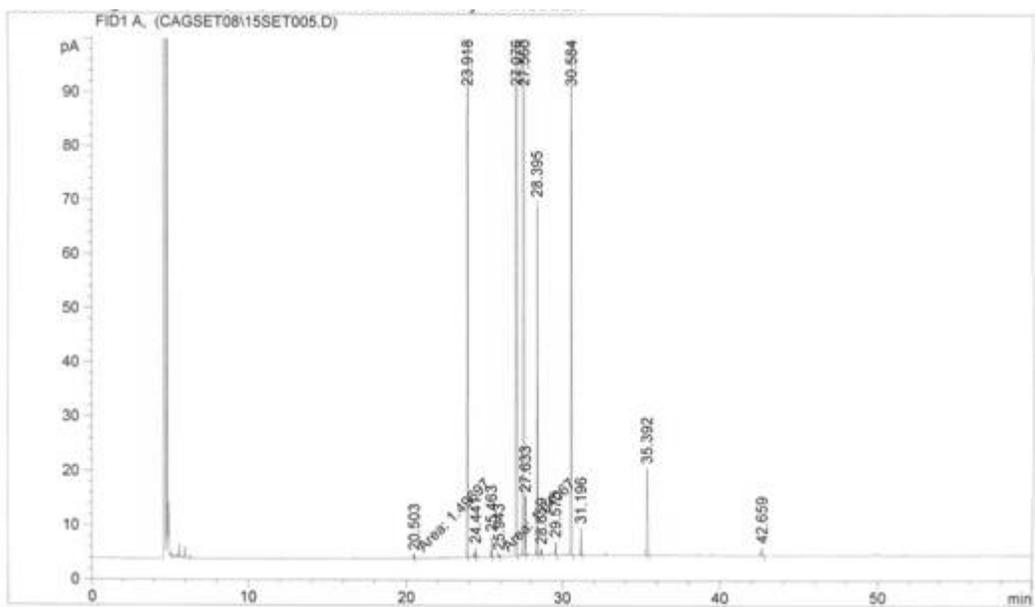


Figura 8.22 - Cromatograma obtido para a condição de extração de 400 bar e 70°C.