

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE
EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE ÓLEO DE FARELO
DE ARROZ**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Juliana Ferreira Soares

Santa Maria, RS, Brasil

2015

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE ÓLEO DE FARELO DE ARROZ

Juliana Ferreira Soares

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Área de Concentração em Desenvolvimento de Processos Agroindustriais e Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS),
Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Engenharia de Processos.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Mazutti
Coorientador: Prof. Dr. Julian Martínez

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO NA
OBTENÇÃO DE ÓLEO DE FARELO DE ARROZ**

elaborada por
Juliana Ferreira Soares

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Engenharia de Processos

Comissão Examinadora:

Marcio Antonio Mazutti, Dr.
(Presidente/Orientador)

Julian Martínez, Dr. (UNICAMP)
(Coorientador)

Marcelo Lanza, Dr. (UFSC)

Marcus Vinícius Tres, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 19 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por sempre iluminar meu caminho e colocar pessoas incríveis e essenciais nele, minha eterna gratidão;

À minha família, por todo amor e apoio;

Ao meu namorado Róbson Ilha, pelo amor, amizade, companheirismo e por sempre incentivar e apoiar;

À minha grande amiga, Alana, por mesmo de longe ter apoiado e dado força;

Ao meu orientador, por ter confiado a mim este projeto de mestrado, pelos ensinamentos, apoio, incentivo e por toda contribuição para meu crescimento profissional;

Aos meus colegas, em especial à Camila, Chayene e Nicholas, que estiveram comigo desde o início, ajudando em tudo que foi possível durante o mestrado, e principalmente pela grande amizade construída;

Aos meus bolsistas, Matheus de Souza e Felipe Lunelli, não só pela essencial ajuda no desenvolvimento deste trabalho, mas também pela amizade e por tudo que pude aprender com eles;

À Valéria Dal Prá, pela ajuda prestada na realização das análises de atividade oxidante e na interpretação dos cromatogramas;

À Universidade Federal de Santa Maria, juntamente ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos, pelo suporte oferecido para desenvolvimento deste projeto;

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, juntamente ao Laboratório de Alta Pressão em Engenharia de Alimentos (LAPEA);

Ao coorientador Julian Martínez, pela orientação na etapa do projeto desenvolvida no LAPEA/UNICAMP;

Ao grupo do LAPEA, por me receber tão bem e ajudar em parte deste projeto;

Ao Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO), pela realização das análises cromatográficas;

Ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) por disponibilizar o uso do Microscópio Eletrônico de Varredura, e à Prof. Camila A. Rezende (IQ-UNICAMP) e ao Manuel Barrales pelas análises de microscopia;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado, e ao Concelho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto;

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE ÓLEO DE FARELO DE ARROZ

Autora: Juliana Ferreira Soares

Orientador: Marcio Antonio Mazutti

Coorientador: Julian Martínez

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 19 de fevereiro de 2015.

O óleo do farelo de arroz (RBO) é uma fonte natural rica em antioxidantes e contém uma composição balanceada de ácidos graxos, o que é de grande interesse para aplicação na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estudar a extração do óleo de farelo de arroz pelos processos de extração supercrítica utilizando dióxido de carbono (ESC-CO₂), ESC-CO₂ assistida por ultrassom (US) e extração com gás liquefeito de petróleo comprimido (GLP), além de avaliar a atividade antioxidante e a composição química dos extratos obtidos. Na ESC foram estudadas as condições de pressão (150–250 bar) e temperatura (40–80 °C), enquanto na ESC + US as variáveis estudadas foram potência (160–320 W) e o tempo de aplicação (40–120 min) do ultrassom. Nas extrações com GLP foi investigado o efeito da pressão (5–25 bar) e da temperatura (20–30 °C). A atividade antioxidante dos extratos foi determinada pelo método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e a composição química por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Os rendimentos máximos alcançados de RBO foram de 12,68%, a 250 bar e 40°C, na ESC, 12,65%, utilizando 160 W por 40 min na ESC assistida por US, e de 12,07% a 25 bar e 40°C na extração com GLP comprimido. A atividade antioxidante dos extratos variou de 54,55–71,67% na ESC, de 69,26–72,42% na ESC + US e de 63,55–67,49% na extração com GLP. O principal composto antioxidante encontrado nos diferentes processos foi o β -sitosterol, que é um dos esteróis que compõem o γ -orizanol. A aplicação do US na ESC acelerou o processo e aumentou em aproximadamente 27% o rendimento de RBO. Nos processos de ESC com e sem aplicação de US foram dispendidos 120 minutos para obtenção de 81,93% e 64,38% de rendimento, respectivamente, enquanto que a extração com GLP comprimido levou apenas 5 minutos para extrair 78,17% de óleo, mostrando a elevada solubilidade do óleo nesse solvente. De um modo geral, os processos obtiveram um bom desempenho na recuperação do óleo do farelo de arroz, sendo consideradas alternativas tecnicamente viáveis aos processos convencionais.

Palavras chave: Óleo de farelo de arroz. Potencial antioxidante. Processos. Extração supercrítica. Dióxido de carbono. Ultrassom. Gás liquefeito de petróleo.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Post Graduation Program in Processing Engineering
Federal University of Santa Maria

EVALUATION OF DIFFERENT EXTRACTION PROCESSES ON THE OBTAINMENT OF RICE BRAN OIL

Author: Juliana Ferreira Soares

Advisor: Marcio Antonio Mazutti

Co-advisor: Julian Martínez

Place and date of defense: Santa Maria, February 19, 2015.

Rice bran oil (RBO) is a natural rich source of antioxidants and contains a balanced fatty acids composition, which is of great interest for application in food, cosmetic and pharmaceutical industries. Therefore, the objective of this study was to investigate the rice bran oil extraction using supercritical fluid extraction with carbon dioxide (SFE-CO₂), SFE-CO₂ assisted by ultrasound (US) and with compressed liquefied petroleum gas (LPG). Also, the antioxidant activity and chemical composition of extracts were evaluated. In the SFE, pressure (150–250 bar) and temperature (40–80 °C) conditions were studied, while in the SFE + US the variables studied were power (160–320 W) and time of ultrasound application (40–120 min). In the extraction using LPG, the pressure (5–25 bar) and the temperature (20–30°C) effects were investigated. The antioxidant activity of the extracts was assayed by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging method and the chemical composition by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). The maximum yields achieved of RBO were 12.68%, at 250 bar and 40 °C, in the SFE, 12.65%, using 160 W for 40 min in the SFE assisted by US, and 12.07% at 25 bar and 40°C in the extraction with compressed LPG. The antioxidant activity of the extracts ranged from 54.55–71.67% in the SFE, 69.26–72.42% in the SFE + US and 63.55–67.49% in the extraction with compressed LPG. The main antioxidant compound found in different processes was the β -sitosterol, which is one of sterols that compose the γ -oryzanol. The US application in SFE accelerated the process and increased the RBO yield in approximately 27%. In the SFE and SFE + US processes were spent 120 min to obtain 81.93% and 64.38%, respectively, while extraction with compressed LPG took only 5 minutes to extract 78.17% of oil, showing high oil solubility in this solvent. In general, the processes performed well in the recovery of rice bran oil, being considered as technically viable alternatives to conventional processes.

Keywords: Rice bran oil. Antioxidant potential. Processes. Supercritical extraction. Carbon dioxide. Ultrasound. Liquefied petroleum gas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Valores característicos das propriedades físicas dos gases, líquidos e fluidos supercríticos (FSC).....	21
Tabela 3.1 – Planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central das extrações de RBO com CO_2 supercrítico	32
Tabela 3.2 – Planejamento experimental do estudo da influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das extrações de RBO com CO_2 supercrítico	32
Tabela 3.3 – Planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central das extrações de RBO com CO_2 supercrítico assistidas por US.....	35
Tabela 3.4 – Planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central das extrações de RBO com GLP comprimido	38
Tabela 4.1 – Caracterização do farelo de arroz utilizado nos processos de extração de óleo ..	42
Tabela 4.2 – Rendimento de RBO nas ESC- CO_2 conduzidas por 4 horas e com vazão de $4 \text{ g}_{\text{CO}_2} \cdot \text{min}^{-1}$	43
Tabela 4.3 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos por ESC- CO_2 ..	47
Tabela 4.4 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC- CO_2 expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•	48
Tabela 4.5 – Relação S/F e rendimento de RBO nas ESCs, a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO_2 fixa em $4 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$	50
Tabela 4.6 – Rendimento de RBO nas ESC- CO_2 com e sem aplicação de US conduzidas por 2 horas e com vazão de $14,82 \text{ g}_{\text{CO}_2} \cdot \text{min}^{-1}$	52
Tabela 4.7 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos por ESC- CO_2 com e sem US	56
Tabela 4.8 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC- CO_2 + US expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•	57
Tabela 4.9 – Rendimento de RBO nas extrações com GLP comprimido conduzidas por 5 minutos e com vazão de $4 \text{ g}_{\text{GLP}} \cdot \text{min}^{-1}$	60
Tabela 4.10 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos com GLP comprimido.....	63
Tabela 4.11 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos com GLP comprimido expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•	64
Tabela 4.12 – Comparativo entre a utilização de CO_2 supercrítico e GLP comprimido como solvente.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Composição do grão de arroz <i>in natura</i>	16
Figura 2.2 – Diagrama de fases para uma substância pura.....	20
Figura 3.1 – Extrator Soxhlet do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro - UFSM.....	29
Figura 3.2 – Diagrama esquemático da unidade experimental de ESC.....	30
Figura 3.3 – Unidade experimental de ESC do laboratório de bioprocessos do PPGEPro - UFSM	30
Figura 3.4 – Diagrama esquemático da unidade experimental de ESC-CO ₂ + US.....	33
Figura 3.5 – Unidade experimental de ESC-CO ₂ acoplada com US do LAPEA - Unicamp ...	34
Figura 3.6 – Diagrama esquemático da unidade experimental de extração com GLP comprimido.....	36
Figura 4.1 – Influência da densidade do CO ₂ nos rendimentos globais de extração.....	44
Figura 4.2 – Efeitos para as variáveis, temperatura (T) e pressão (P), estudadas nas ESCs-CO ₂ de RBO	45
Figura 4.3 – Curvas cinéticas de ESC-CO ₂ de RBO em diferentes condições de temperatura e pressão	46
Figura 4.4 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO ₂	49
Figura 4.5 – Influência da relação S/F nas ESCs, a 40 °C e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO ₂ fixa em 4 g.min ⁻¹	50
Figura 4.6 – Perfis cinéticos das ESCs, a 40 °C e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO ₂ fixa em 4 g.min ⁻¹	51
Figura 4.7 – Efeitos para as variáveis, potência (P) e tempo de aplicação de US (t), estudadas nas ESCs-CO ₂ + US de RBO	54
Figura 4.8 – Curvas cinéticas de ESC-CO ₂ + US de RBO em diferentes condições de potência e tempo de aplicação de US.....	55
Figura 4.9 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO ₂ + US	57
Figura 4.10 – Imagens da MEV das partículas de farelo de arroz <i>in natura</i> (a), após a ESC (b) e após a ESC assistida por US (c).....	59
Figura 4.11 – Efeitos para as variáveis, pressão (P) e temperatura (T), estudadas nas extrações com GLP comprimido de RBO	61
Figura 4.12 – Curvas cinéticas de extração com GLP comprimido de RBO em diferentes condições de temperatura e pressão.....	62
Figura 4.13 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos com GLP comprimido	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHA – Hidroxianisolbutilado
BHT – Hidroxitoluenobutilado
CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CO₂ – Dióxido de carbono
DPPH• – 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
D_{ps} – Diâmetro médio de Sauter
EAU – Extração Assistida por Ultrassom
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESC – Extração Supercrítica
ESC-CO₂ – Extração Supercrítica utilizando dióxido de carbono
ESC+US – Extração Supercrítica assistida por Ultrassom
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations
FSC – Fluido Supercrítico
GLP – Gás Liquefeito de Petróleo
IRGA – Instituto Rio Grandense do Arroz
LAPEA – Laboratório de Alta Pressão em Engenharia de Alimentos
LDL – Lipoproteínas de Baixa Densidade (Low Density Lipoproteins)
LNNano – Laboratório Nacional de Nanotecnologia
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
NAPO – Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas
OEC – Curvas Globais de Extração (Overall Extraction Curve)
P_c – Pressão Crítica
PPGEPro – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos
R₀ – Recuperação de óleo de farelo de arroz
RBO – Óleo de farelo de arroz (Rice Bran Oil)
S/F – Relação Solvente/Matéria-prima
T_c – Temperatura Crítica
US – Ultrassom
X₀ – Rendimento Global

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A – Dados das curvas de extração supercrítica com CO₂

Apêndice B – Dados das curvas de extração supercrítica com CO₂ assistida por US

Apêndice C – Dados das curvas de extração com GLP comprimido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO GERAL	14
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 ARROZ	15
2.2 FARELO DE ARROZ	16
2.3 ÓLEO DE FARELO DE ARROZ (RBO)	17
2.3.1 Compostos antioxidantes	18
2.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO	19
2.4.1 Extração supercrítica	19
2.4.1.1 CO ₂ supercrítico	23
2.4.2 Extração supercrítica assistida por ultrassom	24
2.4.3 Extração com líquido pressurizado	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	27
3.1.1 Diâmetro médio das partículas	27
3.1.2 Umidade	28
3.1.3 Densidade real	28
3.1.4 Teor de óleo	28
3.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE FARELO DE ARROZ	29
3.2.1 Extração com CO ₂ supercrítico	29
3.2.1.1 Influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das ESCs	32
3.2.2 Extração com CO ₂ supercrítico assistida por ultrassom	33
3.2.3 Extração com gás liquefeito de petróleo (GLP) comprimido	36
3.3 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL (X₀) E DA RECUPERAÇÃO DE RBO (R₀)	38
3.4 CURVAS GLOBAIS DE EXTRAÇÃO	39
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
3.6 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS	39
3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS	40
3.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	42
4.2 EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO	42
4.2.1. Rendimento global e recuperação de RBO	42
4.2.2. Efeito da temperatura e pressão	44
4.2.3. Cinética de extração	46
4.2.4. Caracterização química dos extratos	47
4.2.5. Atividade antioxidante dos extratos	48
4.2.6. Influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das ESCs	49
4.3 EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO ASSISTIDA POR ULTRASSOM	51
4.3.1. Rendimento global e recuperação de RBO	51
4.3.2. Efeito da potência e do tempo de aplicação de US	52

4.3.3. Cinética de extração.....	54
4.3.4. Caracterização química dos extratos	55
4.3.5. Atividade antioxidante dos extratos	56
4.3.6. Microscopia eletrônica de varredura	58
4.4. EXTRAÇÃO COM GLP COMPRIMIDO	60
4.4.1. Rendimento global e recuperação de RBO.....	60
4.4.2. Efeito da temperatura e da pressão	60
4.4.3. Cinética de extração.....	61
4.4.4. Caracterização química dos extratos	63
4.4.5. Atividade antioxidante dos extratos	64
4.5. COMPARATIVO ENTRE CO₂ SUPERCRÍTICO E GLP COMPRIMIDO COMO SOLVENTE	65
5. CONCLUSÕES	67
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	69
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICES.....	78

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é consumido por mais da metade da população mundial e é a segunda cultura mais cultivada em todo o mundo, sendo o arroz branco a principal forma de consumo (BAO, 2012; LAOKULDILOK et al, 2011). O processo de polimento do arroz resulta em grandes quantidades de farelo (5 a 8% da massa total do grão). Este subproduto possui baixo valor comercial e tem sido empregado pela indústria brasileira para extração de óleo, como ingrediente para ração animal e como fertilizante orgânico (SILVA et al, 2006).

Dentre os óleos comestíveis, o óleo do farelo de arroz (RBO - Rice Bran Oil) (20-25% do farelo) é uma fonte natural rica em antioxidantes e contém uma composição balanceada de ácidos graxos, o que é de grande interesse para aplicação na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (EMBRAPA, 2013; JESUS et al, 2010). O RBO contém, aproximadamente, 95,6% de lipídeos saponificáveis, como os triglicerídeos, glicolipídeos e fosfolipídeos, e 4,2% de lipídeos insaponificáveis, tais como os tocoferóis e tocotrienóis (vitamina E ou tocóis), γ -orizanois, esteróis e carotenoides, além de outros compostos presentes em concentrações mais baixas (SAYRE, 1998).

Os compostos bioativos encontrados no RBO (γ -orizanol, tocotrienóis e tocoferóis) têm alto poder de ação antioxidante e têm demonstrado várias atividades benéficas à saúde (LAOKULDILOK et al, 2011; ARAB et al, 2011), como, por exemplo, a redução dos níveis de glicose e colesterol total e LDL, a redução do risco de câncer e de doenças cardíacas e a prevenção do Alzheimer e alergias (GHATAK; PANCHAL, 2012; IMSANGUAN et al, 2008).

O RBO tem sido extraído por diversos processos, dentre os quais pode-se citar o método convencional utilizando solventes orgânicos (etanol, metanol, n-hexano, etc.) (AMARASINGHE; GANGODAVILAGE, 2004; ARAB et al, 2011), a extração supercrítica utilizando dióxido de carbono (ESC-CO₂) (TOMITA et al, 2014; MONOSROI et al, 2010) e a extração assistida por micro-ondas (utilizando isopropanol, hexano e etanol como solvente) (ZIGONEANU et al, 2008; TERIGAR et al, 2011).

A ESC-CO₂ é considerada ideal para extração de óleos e uma alternativa ambientalmente segura quando comparada à extração convencional, além de apresentar vantagens como o aumento da seletividade e da automaticidade e resultar em extratos livres de resíduos de solventes, tornando a qualidade do óleo superior à do extraído pelo método

convencional (WANG et al, 2008; ISMAIL et al, 2010; ROSEIRO et al, 2013). O CO₂ é o solvente mais utilizado na ESC, pois permite operações supercríticas com pressões relativamente baixas e temperaturas próximas a ambiente ($T_c = 31,1^\circ\text{C}$; $P_c = 73,8$ bar). Além disso, o CO₂ é reconhecido como seguro (Generally Recognized As Safe – GRAS) (MANTELL et al, 2013), é inerte, não tóxico e não inflamável, e está facilmente disponível com elevada pureza e baixo custo (POULIOT et al, 2014; BRUNNER, 2005).

O rendimento de RBO na ESC-CO₂ pode ser melhorado pela otimização das condições de temperatura e pressão do processo, uma vez que influenciam na solubilidade e na seletividade dos compostos presentes no óleo. Além disso, alguns trabalhos têm mostrado que a utilização do ultrassom (US) pode melhorar o processo de ESC. Balachandran et al (2006) e Santos et al (2015) conseguiram obter um aumento de aproximadamente 30% no rendimento global de extrato de gengibre e de pimenta malagueta, respectivamente, utilizando a ESC assistida por US, quando comparada à ESC sem US, em um mesmo tempo de extração.

Outro processo que vem sendo desenvolvido é a extração de compostos bioativos utilizando propano subcrítico (ILLÉS et al, 1999; HAMDAN et al, 2008; MESOMO et al, 2012). A extração com propano tem mostrado importantes benefícios quando comparada à ESC como, por exemplo, maior rendimento e seletividade, menor tempo de extração e menor consumo de solvente (ILLÉS et al, 1999; HAMDAN et al, 2008; FREITAS et al, 2008; CORSO et al, 2010; RIBAS et al, 2014). O Gás Liquefeito de Petróleo (GLP), que é uma mistura de propano e n-butano, tem sido utilizado como combustível para aparelhos de aquecimento e no cozimento de alimentos. Na literatura não foi encontrado qualquer trabalho utilizando o GLP para extração de óleo e compostos bioativos a partir de matrizes vegetais, o que foi um dos objetivos do presente trabalho, surgindo como uma interessante alternativa ao propano, uma vez que apresenta menor custo e está facilmente disponível (Silva et al, 2013).

O presente trabalho é parte integrante do projeto “Processamento de resíduos com fluídos supercríticos visando à obtenção de produtos com interesse industrial”, o qual foi aprovado na Chamada Pública MCT/CNPq/MEC/CAPES - Ação Transversal nº 06/2011 - Casadinho/Procad. As instituições participantes são o Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria (DEQ/UFSM), a Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (FEA/UNICAMP) e o Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar).

1.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar os processos de extração de óleo de farelo de arroz utilizando CO₂ supercrítico, CO₂ supercrítico assistido por ultrassom e gás liquefeito de petróleo comprimido (GLP), além de determinar a composição química e o potencial antioxidante dos extratos obtidos.

1.2 Objetivos específicos

- ❖ Avaliar as condições de pressão e temperatura no processo de extração utilizando CO₂ supercrítico em escala de bancada;
- ❖ Avaliar a influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das extrações supercríticas utilizando CO₂;
- ❖ Avaliar as condições de potência e tempo de aplicação de ultrassom no processo de extração utilizando CO₂ supercrítico;
- ❖ Avaliar as condições de pressão e temperatura no processo de extração com GLP comprimido;
- ❖ Realizar a caracterização química e a avaliação da atividade antioxidante dos extratos obtidos nos diferentes processos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é consumido por mais da metade da população mundial e é a segunda cultura mais cultivada em todo o mundo, sendo o arroz branco a principal forma de consumo (BAO, 2012; LAOKULDILOK et al, 2011). Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), o Brasil é o nono maior produtor mundial e colheu cerca de 11,92 milhões de toneladas na safra 2012/2013, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor do País, responsável por aproximadamente 8,07 milhões de toneladas (IRGA, 2013).

O grão de arroz *in natura*, ou em casca, é composto por aproximadamente 20% de casca, 70% de endosperma e 10% de farelo e germe, onde está concentrada a maior parte dos lipídeos do grão (PAUCAR-MENACHO et al, 2007). Depois de colhido e seco, o arroz passa pelo processo de descascamento, obtendo-se o arroz integral. Em seguida, o arroz integral passa pela etapa de polimento, onde é produzido o arroz branco (polido) e gerado o farelo como subproduto. O arroz branco é a parte interna do grão, que corresponde ao endosperma, e o farelo às partes mais externas, que consistem de pericarpo, tegumento, nucelo, uma camada de aleurona e germe (ANAL, 2013; FUJINO, 1978) (Figura 2.1).

Além de ser um alimento básico, o arroz tem também um valor medicinal, que foi claramente reconhecido há milhares de anos (BAO, 2012). No farelo são depositados, durante o processo de polimento, alguns nutrientes de alto valor agregado presentes no grão *in natura*, como os tocoferóis e tocotrienóis (vitamina E), o γ -orizanol, compostos fenólicos e sais minerais (como o ferro) (IMSANGUAN et al, 2008; BAO, 2012).

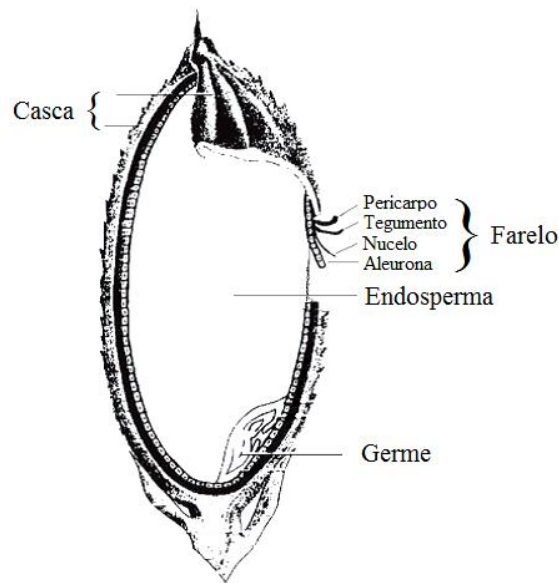


Figura 2.1 – Composição do grão de arroz *in natura*

Fonte: Adaptado de BAO (2012).

2.2 Farelo de arroz

A produção de arroz é significativa no Brasil, resultando em grandes quantidades de resíduos e subprodutos, tais como a casca e o farelo. O farelo de arroz (5 a 8% da massa total do grão) é um produto de baixo valor comercial e tem sido empregado pela indústria brasileira para extração de óleo, como ingrediente na ração animal e como fertilizante orgânico (SILVA et al, 2006).

O farelo é composto por, aproximadamente, 15-20% de lipídeos, 12-15% de proteínas e 7-12% de fibras (ANAL, 2013). Essa composição varia de acordo com o tipo de arroz, com as condições climáticas e com os métodos de beneficiamento do arroz (AMARASINGHE; GANGODAVILAGE, 2004). O farelo de arroz tem recebido muita atenção devido aos seus efeitos benéficos à saúde humana, como, por exemplo, na diabetes, no sistema imunológico, no câncer e nas doenças do coração, além de ser uma importante fonte de antioxidantes naturais, o que é atribuído às quantidades elevadas de compostos bioativos presentes no óleo (PATEL; NAIK, 2004; JUN et al, 2012).

A maior limitação para a utilização do farelo de arroz tem sido a sua natureza altamente instável durante o armazenamento, devido ao seu elevado teor de lipídeos. Após o

polimento do arroz, as enzimas presentes no farelo (lipase, fosfolipase, glicolipase, lipoxigenase e oxidase) (FUJINO, 1978) hidrolisam rapidamente o óleo neutro, aumentando o conteúdo de ácidos graxos livres, o que promove o desenvolvimento do odor e sabor de ranço e, conseqüentemente, deteriora a qualidade nutricional do óleo. A estabilização do farelo pode impedir a deterioração do óleo imediatamente após o beneficiamento do arroz (MUJAHID et al, 2005). De acordo com Shin et al (1997), o farelo tem sido estabilizado por aquecimento, em forno de extrusão ou micro-ondas, congelamento ou tratamento com produtos químicos, sendo a extrusão o processo mais utilizado.

O farelo de arroz desengordurado, subproduto da extração do óleo, contém cerca de 12-19% de proteína, 0,5-7 % de óleo e 5,5-14,5% de fibra. Após a extração do óleo, o farelo geralmente é utilizado como ração animal com um valor econômico reduzido. Além disso, ele é utilizado para suplementos alimentares e amplamente utilizado em produtos de padaria, pois pode melhorar a quantidade de massa, aminoácidos, vitaminas e minerais. Em cereais e biscoitos o farelo desengordurado é usado para melhorar a capacidade de absorção, aparência e sabor (ANAL, 2013).

2.3 Óleo de farelo de arroz (RBO)

Os subprodutos agrícolas são frequentemente subutilizados e, por conseguinte, seu elevado valor nutracêutico e biológico é perdido (DANIELSKI et al, 2005). A extração de óleo a partir de farelo de arroz é atualmente o processo mais comum e economicamente importante na recuperação dos compostos de alto valor agregado presente neste subproduto (KIM et al, 1999). O interesse mundial no óleo de farelo de arroz (RBO) tem aumentado constantemente, uma vez que é uma fonte natural rica em antioxidantes e contém uma composição equilibrada de ácidos graxos, a maioria deles de valor nutricional, farmacêutico e cosmético (JESUS et al, 2010; CHEN et al, 2011).

O RBO (20-25% do peso do farelo) (EMBRAPA, 2013) contém, aproximadamente, 95,6% de lipídeos saponificáveis, como os triglicerídeos, glicolipídeos e fosfolipídeos, e 4,2% de lipídeos insaponificáveis, tais como os tocoferóis e tocotrienóis (vitamina E ou tocóis), γ -orizanois, esteróis e carotenoides, além de outros compostos presentes em concentrações mais baixas (SAYRE, 1998). Quando comparado com a maioria dos óleos comestíveis o RBO

apresenta uma composição qualitativamente distinta de compostos bioativos (JESUS et al, 2010).

2.3.1 Compostos antioxidantes

Compostos antioxidantes são substâncias, naturais ou sintéticas, que são benéficas à saúde protegendo as células do organismo contra danos causados por radicais livres e espécies reativas de oxigênio (BAJEROVÁ et al, 2014; GOUFO; TRINDADE, 2014). Um crescente interesse na identificação de antioxidantes naturais eficazes e econômicos tem surgido devido ao aumento da preocupação com a segurança dos antioxidantes sintéticos, tais como o hidroxianisolbutilado (BHA) e hidroxitoluenobutilado (BHT) (LAOKULDILOK et al, 2011). Nesse sentido, nas últimas duas décadas, estudos têm mostrado que o farelo de arroz contém um complexo único de compostos antioxidantes, tais como a vitamina E e o γ -orizanol, além de apresentar diversos benefícios à saúde (LAOKULDILOK et al, 2011; ARAB et al, 2011).

A vitamina E é um termo genérico para um grupo de quatro tocoferóis (α , β , γ e δ) e tocotrienóis (α , β , γ e δ) (ARAB et al, 2011), dos quais o α -tocoferol apresenta maior atividade biológica e tem sido relatado que o mesmo pode reduzir o risco de câncer e doenças cardíacas e prevenir o Alzheimer e alergias (IMSANGUAN et al, 2008). Os tocoferóis e os tocotrienóis são componentes nutricionais importantes que atuam como sequestradores biológicos de radicais livres e participam na prevenção de doenças. Os tocoferóis são fortes antioxidantes e podem proteger os lipídeos insaturados e o colesterol *in vivo*, enquanto que os tocotrienóis foram relatados por estarem envolvidos na atividade anticancerígena (KRAUJALIS; VENSKUTONIS, 2013; ARAB et al, 2011). A concentração de vitamina E no RBO é relativamente elevada quando comparada a outros óleos vegetais (SHIN et al, 1997), estando dentro do limite de 0,10-0,14% (CHEN et al, 2011).

O γ -orizanol é uma mistura de ésteres de ácido ferúlico, os quais são formados pela esterificação do grupo hidroxila de esteróis (campesterol, estigmasterol, β -sitosterol) ou de álcoois triterpênicos (24-metilenocicloartenol, cicloartanol, cicloartenol, ciclobranol) (GOUFO; TRINDADE, 2014). O γ -orizanol tem recebido atenção especial por ter uma poderosa ação antioxidante e ser encontrado em um número muito limitado de óleos (JESUS et al, 2010). Além disso, pode ser utilizado na redução dos níveis de glicose e colesterol total e LDL, na inibição da agregação plaquetária e da secreção de ácido gástrico e como

conservante (GHATAK; PANCHAL, 2012; ISMAIL et al, 2010; IMSANGUAN et al, 2008). O RBO contém, aproximadamente, 0,9-2,9% de orizanol, dependendo dos fatores genéticos e ambientais (ARAB et al, 2011; CHEN et al, 2011).

Além dos compostos descritos acima, o RBO possui uma composição balanceada de ácidos graxos. Devido ao elevado conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados o RBO é considerado um óleo saudável (PAUCAR-MENACHO et al, 2007). Estudos mostram que os ácidos graxos poli-insaturados presentes no RBO são eficazes na redução dos níveis de lipídeos e colesterol no sangue, prevenindo doenças tais como a arteriosclerose e o infarto do miocárdio causado por problemas de circulação (KIM et al, 1999). Os principais ácidos graxos encontrados no RBO são o ácido oleico (18:1), linoleico (18:2), e palmítico (16:0) (BAO, 2012). Estudos realizados por Goffman et al (2003) apontaram que a composição de ácidos graxos do RBO foi de 35,9–49,2% de ácido oleico, 27,3–41,0% de ácido linoleico e de 13,9–22,1% de ácido palmítico.

2.4 Processos de extração

2.4.1 Extração supercrítica

A extração supercrítica (ESC) é um processo de transferência de massa sob condições de pressão e temperatura acima do ponto crítico do solvente (MANTELL et al, 2013). O estado supercrítico foi evidenciado pela primeira vez em 1822, e em 1879, Hannay e Hogarth demonstraram a capacidade dos fluidos supercríticos (FSCs) em dissolver solutos, introduzindo a possibilidade de um novo meio solvente (ROMBAUT et al, 2014; HERRERO et al, 2010). No entanto, foi desde o início dos anos 1970 que a ESC tem sido aplicada para processamento de óleos comestíveis e seus compostos (BRUNNER, 2005).

A descafeinação do café e do chá foi uma das primeiras aplicações da tecnologia de extração com fluido supercrítico. Atualmente, a ESC-CO₂ tem sido industrialmente utilizada na obtenção de diferentes produtos como, por exemplo, na obtenção de extratos de plantas para fins cosméticos, pela empresa Agrisana na Itália, na extração de óleos essenciais de plantas, pela empresa The Herbarie nos Estados Unidos, e na produção de tabaco sem nicotina, pela empresa Philip Morris nos Estados Unidos (MANTELL et al, 2013). Embora os

processos de ESC ofereçam vantagens em termos de segurança e custos operacionais, a utilização industrial desta tecnologia demanda altos custos de investimento (POULIOT et al, 2014).

Um fluido é considerado em estado supercrítico quando submetido à pressão e temperatura maiores que as condições críticas (BRUNNER, 2005), onde as fases gasosa e líquida são indistinguíveis (POULIOT et al, 2014). A figura 2.2 apresenta o diagrama de fases de uma substância pura. A temperatura crítica (T_c) é considerada como a temperatura máxima, na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão, e a pressão crítica (P_c) como a pressão máxima, na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura (RIZVI et al, 1986).

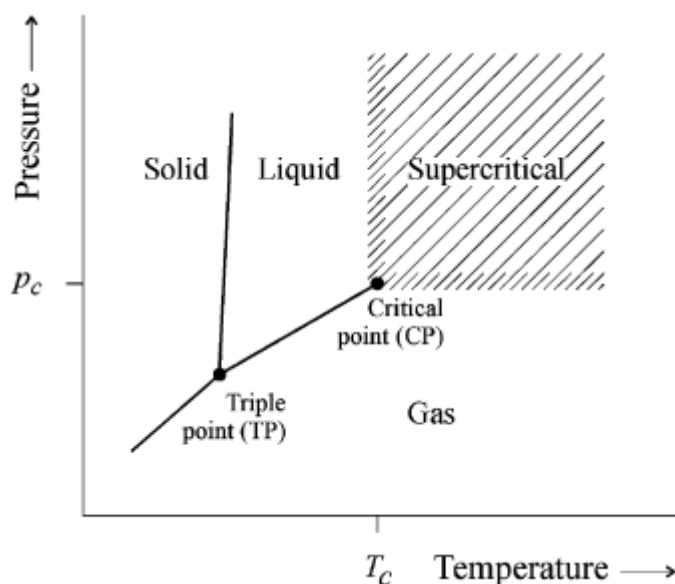


Figura 2.2 – Diagrama de fases para uma substância pura

Fonte: Brunner (2005).

O grande interesse em FSCs surge a partir de suas propriedades, as quais são intermediárias entre a dos gases e líquidos (MANTELL et al, 2013). A tabela 2.1 mostra a comparação entre propriedades físicas dos FSCs, dos gases e dos líquidos. A densidade, próxima à dos líquidos, está relacionada com o poder de solvatação do solvente. Já a viscosidade, próxima a dos gases, e a difusividade, intermediária entre a dos gases e dos líquidos, estão relacionadas com a taxa de transferência de massa entre o soluto e o fluido

(BRUNNER, 2005; PHAM; LUCIEN, 2012). As propriedades dos FSCs são muito sensíveis a pequenas alterações na temperatura e na pressão próximas do ponto crítico, principalmente a densidade, o que permite ajustar a seletividade do solvente para a obtenção de compostos de interesse (PHAM; LUCIEN, 2012).

Tabela 2.1 – Valores característicos das propriedades físicas dos gases, líquidos e fluidos supercríticos (FSC)

Estado de Agregação	Densidade (g.cm⁻³)	Difusividade (cm².s⁻¹)	Viscosidade (g.cm⁻¹.s⁻¹)
<i>Gás</i> P = 1,01 bar, T = 15-30 °C	(0,6-2,0)x10 ⁻³	0,1-0,4	(0,6-2,0)x10 ⁻⁴
<i>Líquido</i> P = 1,01 bar, T = 15-30 °C	0,6-1,6	(0,2-2,0)x10 ⁻⁵	(0,2-3,0)x10 ⁻²
<i>FSC</i>			
T _c , P _c	0,2-0,5	0,7x10 ⁻³	(1-3)x10 ⁻⁴
T _c , P _c	0,4-0,9	0,2x10 ⁻³	(3-9)x10 ⁻⁴

Fonte: Adaptado de Brunner (2005).

A solubilidade de extratos no fluido supercrítico é função da densidade do solvente e da pressão de vapor do soluto. Para pressões supercríticas mais baixas, próximas ao ponto crítico, a solubilidade dos compostos diminui com o aumento da temperatura, uma vez que a densidade do fluido diminui. No entanto, em pressões mais elevadas a mudança da densidade com a temperatura é mais moderada, sendo a pressão de vapor do soluto o fator dominante. Neste caso, o aumento da temperatura aumenta a pressão de vapor do soluto, resultando no aumento da solubilidade dos compostos (BRUNNER, 2005).

Tomita et al (2014) observaram que o aumento da temperatura, sob uma pressão de 200 bar, resultou em um decréscimo no rendimento e recuperação de RBO. No entanto, em pressões mais elevadas (300 e 400 bar), o efeito observado foi inverso, o aumento da temperatura aumentou o rendimento e a recuperação dos extratos. Wang et al (2008) sugerem a hipótese de que o rendimento de extração de RBO é influenciado pela densidade do CO₂ em pressões supercríticas abaixo de 270 bar e pela pressão de vapor do soluto em pressões acima

de 270 bar.

Em comparação com os solventes líquidos, utilizados no processo de extração convencional, o fluido supercrítico apresenta uma baixa viscosidade, difundindo-se facilmente na matriz sólida, e uma baixa tensão superficial, permitindo uma penetração rápida do solvente no sólido e, conseqüentemente, aumentando a eficiência da extração (POULIOT et al, 2014). Embora a extração convencional seja de baixo custo, de fácil operação e apresente elevados rendimentos de extrato, este método necessita de grandes quantidades de solventes tóxicos (n-hexano, etanol, etc.), demandando de uma difícil etapa de separação. Além disso, pode haver a degradação térmica dos compostos de interesse devido às elevadas temperaturas do solvente aplicadas durante longos tempos de extração (KIM et al, 1999; GIL-CHÁVEZ et al, 2013).

Xu e Godber (2000) compararam o método de ESC-CO₂ (50 °C/689 bar) com a extração por solvente (60 °C; 50% hexano e 50% isopropanol) para a obtenção de γ -orizanol a partir do farelo de arroz. O rendimento de γ -orizanol na ESC foi aproximadamente 4 vezes superior ao obtido na extração com solvente. Imsanguan et al (2008) concluíram em seu trabalho que a ESC-CO₂ foi o melhor método de extração de α -tocoferol e γ -orizanol a partir de farelo de arroz, em comparação com as extrações com solvente (n-hexano e etanol) e por Soxhlet (n-hexano e etanol), tendo em vista os altos rendimentos obtidos e as taxas de extração terem sido mais elevadas (31,83 mg/kg/h na ESC-CO₂ em comparação com 7,18 mg/kg/h na extração por Soxhlet). Uma vez que o tempo da ESC foi muito menor do que o tempo de extração por Soxhlet (de 4 h a 24 h), em temperaturas semelhantes, a possibilidade de degradação térmica é largamente reduzida.

Outro problema da extração convencional é que os extratos obtidos necessitam de uma etapa de refino para remover os compostos indesejáveis, onde os compostos valiosos presentes nos extratos também podem ser perdidos. Nesse sentido, devido a sua elevada seletividade, a ESC tem sido sugerida como uma alternativa aos processos de refino para obter extratos ricos em compostos de interesse (HERRERO et al, 2010), como é o caso, por exemplo, do óleo de farelo de arroz (IMSANGUAN et al, 2008), do óleo de semente de chia (URIBE et al, 2011), do óleo de germen de trigo (EISENMENGER; DUNFORD, 2008) e do óleo de palma (DAVARNEJAD et al, 2008).

2.4.1.1 CO₂ supercrítico

Vários solventes têm sido estudados na ESC, como o etanol (AKALIN et al, 2013), o propano (DEO et al, 1992) e a água (HSUEH et al, 2013). No entanto, o principal solvente utilizado é o dióxido de carbono (CO₂), pois permite operações supercríticas com pressões relativamente baixas e temperaturas próximas à ambiente ($T_c = 31,1^\circ\text{C}$; $P_c = 73,8$ bar) (REVERCHON; DE MARCO, 2006; POULIOT et al, 2014). Além disso, o CO₂ é reconhecido como seguro (Generally Recognized As Safe – GRAS) (MANTELL et al, 2013), é inerte, não tóxico e não inflamável, e está facilmente disponível com elevada pureza e baixo custo (POULIOT et al, 2014; BRUNNER, 2005).

Outra vantagem é que o CO₂ é gasoso à temperatura e pressão ambiente, o que torna muito simples a recuperação do extrato livre de solvente. Além disso, as ESCs com CO₂ podem ser conduzidas em temperaturas amenas, o que permite a extração de compostos termolábeis ou facilmente oxidáveis (HERRERO et al, 2010). O CO₂ apresenta propriedades favoráveis de transporte, como a baixa viscosidade, altos coeficientes de difusão e condutividade térmica e entalpia de vaporização adequadas, especialmente próximas ao ponto crítico (MANTELL et al, 2013).

A principal desvantagem do CO₂ supercrítico é a sua baixa polaridade, problema que pode ser superado utilizando co-solventes (etanol, água, etc.) para mudar a polaridade do fluido e aumentar seu poder de solvatação para os compostos polares de interesse (HERRERO et al, 2010). Por exemplo, Kraujalis e Venskutonis (2013) concluíram em seu trabalho que a adição de 2-5% de etanol na ESC-CO₂ de squaleno e tocoferóis, a partir do amarantho, pode aumentar o rendimento em mais de 2 e 3 vezes, respectivamente, e melhorar a capacidade antioxidante dos extratos. No entanto, um poder de solvatação maior pode resultar em uma seletividade mais baixa e, uma vez que o solvente é líquido à pressão atmosférica, será coletado junto aos extratos. Desse modo um processo subsequente de separação será necessário, e conseqüentemente, uma das principais vantagens da ESC será perdida (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

2.4.2 Extração supercrítica assistida por ultrassom

Uma das principais dificuldades da extração com fluido supercrítico é a cinética lenta do processo. Geralmente, a solubilidade dos compostos de interesse no fluido supercrítico é menor do que em solventes utilizados nos processos convencionais e, conseqüentemente, a taxa de transferência de massa é menor (RIERA et al, 2007). Nesse sentido, a aplicação da energia de ultrassom (US) na ESC tem sido considerada uma alternativa promissora, pois aumenta o coeficiente de transferência de massa e, conseqüentemente, acelera a cinética do processo e aumenta o rendimento final de extração (RIERA et al, 2004).

As aplicações de ultrassom podem ser divididas em baixa e alta intensidade (frequência acima e abaixo de 100 kHz, respectivamente) (SALAZAR et al, 2011). O ultrassom de baixa intensidade utiliza níveis de energia tão pequenos (tipicamente $< 1 \text{ W.cm}^{-2}$) que a onda de ultrassom não causa alterações físicas ou químicas nas propriedades do material através do qual a onda passa, ou seja, é não destrutivo. Por outro lado, o ultrassom de alta intensidade utiliza níveis de potência tão elevados (tipicamente de $10\text{-}1000 \text{ W cm}^{-2}$) que causam uma ruptura física no material em que são aplicados ou promovem certas reações químicas como, por exemplo, a oxidação (MCCLEMENT, 2005).

A utilização de ultrassom de alta intensidade é considerada uma tecnologia emergente nas indústrias alimentícia, química e farmacêutica e representa uma maneira limpa e eficiente de acelerar e melhorar os processos de transferência de massa, o que pode ser atribuído aos efeitos produzidos por compressões e descompressões, bem como pela pressão de radiação, vibrações de grande amplitude, agitação, dissipação, etc. (RIERA et al, 2004; RIERA et al, 2010). Estes efeitos mecânicos do US provocam a ruptura das paredes das células e proporcionam uma maior penetração do solvente na matriz vegetal (MASON et al, 1996). Além disso, a utilização da energia ultrassônica permite a obtenção de extratos economicamente competitivos de alta qualidade (RIERA et al, 2010).

Riera et al (2004) estudaram a aplicação do US na ESC de óleo de amêndoa para avaliar o efeito das ondas acústicas no processo, onde foi utilizada uma pressão de 280 bar, temperatura de 55°C, frequência de 20 kHz e potência de 50 W. Os resultados mostraram que a etapa inicial (linear) das curvas cinéticas com e sem ultrassom foram semelhantes, sugerindo que esta fase é controlada principalmente pela solubilidade do óleo no CO₂. Porém, no estágio seguinte eles observaram que o processo era controlado pela transferência de

massa, no qual o ultrassom tem um papel importante, favorecendo a penetração e difusão do CO₂.

A extração assistida por ultrassom (EAU) de compostos bioativos a pressão ambiente, utilizando diferentes solventes (etanol, n-hexano, etc.), tem sido alvo de diversos estudos (ZHANG et al, 2008; BOONKIRD et al, 2008; SUN et al, 2011; CARRERA et al, 2012; WANG et al, 2013). No entanto, existem poucos trabalhos que investigam a aplicação do ultrassom no processo de ESC-CO₂. Riera et al (2004), Balachandran et al (2006), Hu et al (2007) e Santos et al (2015) avaliaram o processo de extração supercrítica com e sem aplicação de ultrassom, onde alcançaram aumentos no rendimento global dos extratos de 20, 30, 14 e 30%, respectivamente, utilizando US.

As EAUs são bem conhecidas por causar uma série de efeitos físicos (turbulência, aglomeração de partículas, micro fluxos e ruptura da célula biológica), e efeitos químicos (formação de radicais livres). Estes efeitos surgem principalmente do fenômeno conhecido como cavitação, o qual refere-se à formação, crescimento e colapso violento de microbolhas em um líquido sob sonicação, devido a flutuações de pressão. No entanto, quando um líquido é pressurizado a intensidade acústica necessária para produzir cavitação também aumenta e isto geralmente coloca um limite natural sobre a aplicação de ultrassons em processos de alta pressão. Enquanto a cavitação pode explicar o aprimoramento nos processos sob condições ambientais, a ausência de limite de fase do fluido supercrítico parece evitar a formação de bolhas acima do ponto crítico (BALACHANDRAN et al, 2006).

Tendo em vista que o mecanismo responsável por melhorar a difusão interna não é claro em processos supercríticos assistidos por US, Balachandran et al (2006) estudaram alguns mecanismos alternativos que poderiam ocasionar danos às células vegetais, onde observaram que a rápida penetração na membrana celular e a intensificação da transferência de massa são devido aos efeitos físicos causados pelas vibrações ultrassônicas sobre a superfície das partículas, ou simplesmente pelas rápidas mudanças na densidade do fluido induzidas pela pressão das ondas ultrassônicas. Embora os eventos cavitacionais no fluido supercrítico pareçam ser impossíveis, devido à ausência de um limite de fases, os autores consideraram a possibilidade de cavitação como um dos mecanismos para a melhoria do processo, pois este fenômeno poderia ocorrer através da formação de bolhas subcríticas de gás no fluido supercrítico.

2.4.3 Extração com líquido pressurizado

Com base nas técnicas de extração tradicionais, tem surgido um grande interesse na utilização de n-butano e propano líquido como uma alternativa aos solventes convencionais para remoção de compostos orgânicos a partir de diversas matrizes. Quando os gases propano e n-butano são liquefeitos, suas propriedades físico-químicas são ideais (YANG et al, 2004). O propano tem um alto poder de solvatação, não deixa resíduos tóxicos e requer baixas pressões de extração quando comparada a ESC (SPARKS et al, 2006; MESOMO et al, 2012). No entanto, nenhum estudo tem sido relatado por utilizar o gás liquefeito de petróleo (GLP), que é basicamente uma mistura de propano e n-butano, na extração de compostos bioativos. A disponibilidade e o baixo custo do GLP tornam-o uma alternativa interessante quando comparado ao CO₂, ao propano e ao n-butano (SILVA et al, 2013).

Recentemente, a aplicação do GLP foi estudada como uma técnica de tratamento para aumentar a atividade da enzima celulase (SILVA et al, 2013). O propano e o butano têm sido correntemente estudados na extração de óleo e compostos bioativos de matrizes vegetais (ILLÉS et al, 1999; HAMDAN et al, 2008; MESOMO et al, 2012) e na remoção de poluentes presentes na água (YANG et al, 2004), sendo considerada uma alternativa promissora. A extração com propano tem mostrado importantes benefícios quando comparada a extração supercrítica como, por exemplo, maior rendimento e seletividade, menor tempo de extração e menor consumo de solvente (ILLÉS et al, 1999; HAMDAN et al, 2008; FREITAS et al, 2008; CORSO et al, 2010; RIBAS et al, 2014).

Illés et al (1999) estudaram a extração de óleo de páprica utilizando CO₂ supercrítico (35-55°C e 100-400 bar) e propano subcrítico (25°C e 30-80 bar) como solventes, onde o rendimento máximo de óleo alcançado foi de 7,2 e 8,8 g por 100 g páprica, com CO₂ (400 bar; 35°C) e propano (30 bar; 25°C), respectivamente. A solubilidade do óleo no solvente foi estimada em 13,2 g de extrato por 100 g de propano e de 1,125 g de extrato por 100 g de CO₂ supercrítico, revelando a elevada solubilidade do óleo de páprica no propano. Além disso, enquanto nas melhores condições de ESC foram extraídas apenas 290-390 µg de carotenoides a partir de 1 g páprica, o propano subcrítico extraiu 970-1350 µg.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da matéria-prima

O farelo de arroz utilizado neste estudo foi proveniente do processamento do arroz da safra de 2013 da Indústria Primo Berleze e Cia. Ltda., localizada no município de Santa Maria - RS. As condições de cultura e processamento do arroz não são conhecidas, uma vez que a indústria recebe arroz de diferentes produtores e de diferentes qualidades. As amostras de farelo foram congeladas, mantendo uma temperatura baixa (-18 °C), para evitar a degradação das mesmas, visto seu elevado teor de lipídeos. Todos os experimentos foram realizados com a matéria-prima da mesma safra.

3.1.1 Diâmetro médio das partículas

O diâmetro médio das partículas de farelo de arroz foi determinado pelo método do Diâmetro Médio de Sauter. Foi utilizado um conjunto de peneiras da série Tyler, uma balança analítica (Marte, AY220) e 100 g de amostra de farelo de arroz. O diâmetro foi calculado de acordo com a equação 3.1, onde: D_{ps} é o Diâmetro médio de Sauter; x_i é a fração mássica retida e d_i o diâmetro médio das partículas retidas em cada peneira.

$$D_{ps} = \frac{1}{\sum \left(\frac{x_i}{d_i} \right)} \quad (3.1)$$

3.1.2 Umidade

O teor de umidade do farelo de arroz foi determinado pela técnica de gravimetria no Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro da UFSM (Santa Maria – Rio Grande do Sul). Este método baseia-se na quantificação da massa de uma amostra antes e depois da secagem em estufa (Sterilifer, SX 1.3 DTME) a 105 °C. Para isto, foram colocadas 10 g de farelo na estufa (105 °C) por 2 horas e, então, quantificada a umidade pela diferença de massa entre a amostra úmida e seca.

3.1.3 Densidade real

A determinação da densidade do farelo de arroz foi realizada pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (Campinas – São Paulo). A amostra de farelo *in natura* foi analisada em picnômetro de gás hélio (Picnômetro automático Quantachrome Ultrapyc, 1200e) conforme manual de operação do equipamento. Esta técnica foi adotada devido a sua exatidão, visto que o gás hélio é inerte e penetra facilmente nos poros da matriz vegetal, pois possui átomos pequenos e baixa tensão superficial.

3.1.4 Teor de óleo

O teor de óleo no farelo de arroz foi determinado a partir do método Soxhlet (Marconi, Modelo MA491/6) (Figura 3.1), do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro da UFSM (Santa Maria – Rio Grande do Sul). A extração foi realizada utilizando 1g de farelo e conduzida por 2 horas, empregando n-hexano como solvente. No final o solvente foi evaporado e a massa de óleo quantificada pelo método gravimétrico. O experimento foi realizado em triplicata.



Figura 3.1 – Extrator Soxhlet do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro - UFSM

3.2 Processos de extração de óleo de farelo de arroz

A extração de óleo de farelo de arroz (RBO) foi avaliada pelos seguintes processos: extração supercrítica utilizando CO_2 como solvente (ESC- CO_2), extração com CO_2 supercrítico assistida por ultrassom (ESC- CO_2 + US) e extração com gás liquefeito de petróleo comprimido (GLP). Estes métodos estão descritos a seguir.

3.2.1 Extração com CO_2 supercrítico

Os experimentos foram realizados na unidade experimental de extração supercrítica do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro da UFSM (Santa Maria – Rio Grande do Sul). A unidade era composta basicamente de um cilindro de solvente (CO_2 com 99,5% de pureza) procedente da empresa Air Liquide, uma célula/extrator (encamisada) de aço inox com volume interno de 100 mL, uma bomba de alta pressão do tipo seringa (ISCO, modelo 500D) e dois banhos termostáticos (Quimis, modelo Q214M2), como mostra o diagrama esquemático apresentado na figura 3.2. A figura 3.3 apresenta a unidade experimental utilizada no estudo deste processo.

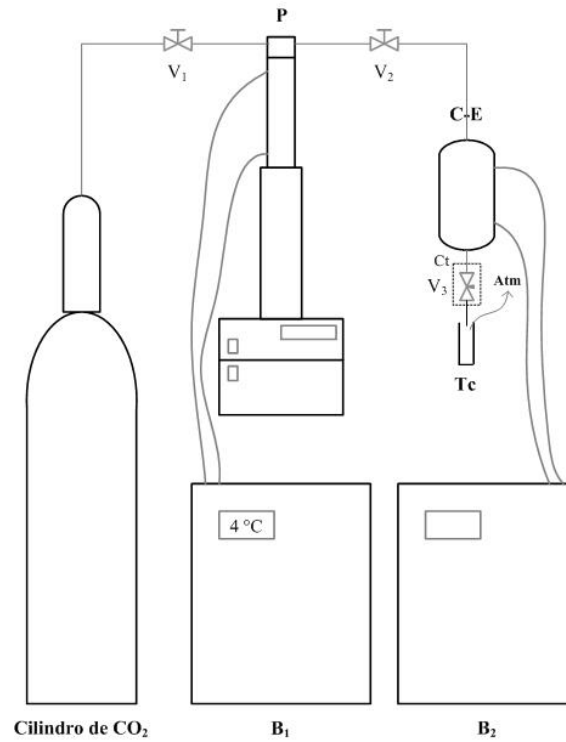


Figura 3.2 – Diagrama esquemático da unidade experimental de ESC

B₁: banho frio; B₂: banho quente; P: bomba de alta pressão; C-E: célula de extração; Tc: tubo coletor; Ct: controlador de temperatura; V₁ e V₂: válvulas de bloqueio; V₃: válvula micrométrica.



Figura 3.3 – Unidade experimental de ESC do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro - UFSM

Para uma melhor elucidação da metodologia utilizada na obtenção de RBO, em escala laboratorial, empregando um sistema de ESC-CO₂, o procedimento operacional do processo foi descrito a seguir:

- Inicialmente, o banho termostático B₁ era acionado na temperatura de 4 °C para resfriamento da bomba de alta pressão e para manter constante a temperatura de alimentação do solvente;
- As válvulas (V₁, V₂ e V₃) eram verificadas se estavam fechadas;
- Logo, a célula de extração (C-E) era carregada com 10 g de farelo de arroz e acoplada na unidade;
- O banho termostático B₂ era conectado a célula (C-E) e acionado na temperatura de operação pré-determinada;
- Após os banhos atingirem as determinadas temperaturas, o solvente (CO₂) era fornecido ao sistema abrindo as válvulas V₁ e V₂, por aproximadamente 15 minutos. No término dos 15 minutos a válvula V₁ era fechada;
- Logo, dava-se início à pressurização do sistema a partir da bomba de alta pressão (P), conforme a pressão pré-determinada;
- Estabilizada a pressão e temperatura de trabalho, o sistema era mantido estático por 15 minutos;
- Em seguida ligava-se o controlador de temperatura (Ct), para evitar o congelamento da válvula micrométrica (V₃) devido à expansão do CO₂;
- Logo, dava-se início a extração abrindo manualmente a válvula micrométrica (V₃);
- Os extratos eram coletados em tubos coletores (Tc) e o CO₂ liberado para a atmosfera sob condições ambientes.
- As extrações foram conduzidas por 4 horas com uma vazão de 4 gCO₂.min⁻¹, a qual era controlada na bomba de alta pressão;
- Após o término das extrações as amostras eram congeladas para posterior análise de atividade antioxidante e caracterização química.

As condições de temperatura e pressão de ESC foram avaliadas de 40-80 °C e de 150-250 bar, respectivamente. A tabela 3.1 apresenta o planejamento fatorial 2², com triplicata no ponto central, utilizado para as extrações com CO₂ supercrítico.

Tabela 3.1 – Planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central das extrações de RBO com CO_2 supercrítico

Experimento	T (°C)	P (bar)
1	40 (-1)	150 (-1)
2	40 (-1)	250 (+1)
3	80 (+1)	150 (-1)
4	80 (+1)	250 (+1)
5	60 (0)	200 (0)

3.2.1.1 Influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das ESCs

A influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das ESCs foi avaliada aumentando em até cinco vezes a massa de farelo, como apresenta o planejamento descrito na tabela 3.2. O processo ESC- CO_2 foi realizado na mesma unidade e com o mesmo procedimento de extração descrito no item anterior (Seção 3.2.1). A vazão de CO_2 foi fixa em $4 \text{ g}_{\text{CO}_2} \cdot \text{min}^{-1}$ e as condições de temperatura e pressão fixas em 40 °C e 250 bar , respectivamente. Os experimentos foram conduzidos até que as curvas cinéticas fossem estabilizadas.

Tabela 3.2 – Planejamento experimental do estudo da influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das extrações de RBO com CO_2 supercrítico

Experimento	Condições de extração	Massa de soluto (g)
1	$40 \text{ °C}/250 \text{ bar}$	10
2	$40 \text{ °C}/250 \text{ bar}$	20
3	$40 \text{ °C}/250 \text{ bar}$	30
4	$40 \text{ °C}/250 \text{ bar}$	40
5	$40 \text{ °C}/250 \text{ bar}$	50

3.2.2 Extração com CO₂ supercrítico assistida por ultrassom

As extrações foram realizadas na unidade experimental de extração supercrítica do Laboratório de Alta Pressão em Engenharia de Alimentos (LAPEA) da UNICAMP (Campinas – São Paulo). A unidade era composta basicamente de um cilindro de solvente (CO₂ com 99,9% de pureza) de procedência da White Martins S.A., uma célula/extrator de aço inox com volume interno de 295 mL, uma bomba pneumática (PP 111-VE MBR, Maximator), um banho ultratermostatzado (Marconi, modelo MA-184), um banho maria (Marconi, modelo MA-126) e um sistema de ultrassom (Unique, modelo DES500) composto por um transdutor com frequência de 20 kHz, um controlador de potência de saída e uma sonda instalada no interior da célula de ESC, como mostra o diagrama esquemático na figura 3.4. A figura 3.5 apresenta a unidade experimental utilizada no estudo deste processo.

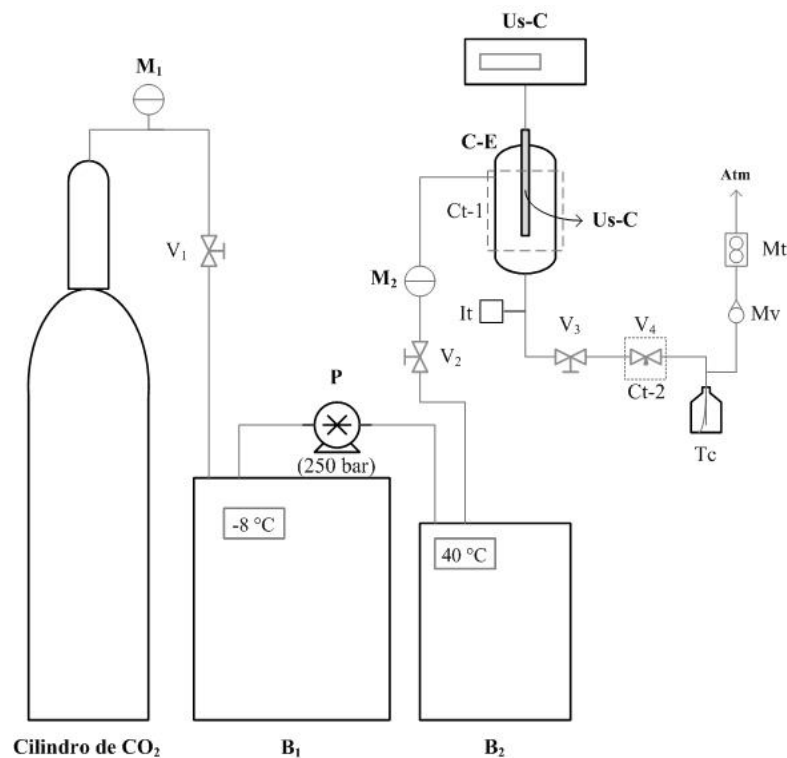


Figura 3.4 – Diagrama esquemático da unidade experimental de ESC-CO₂ + US

M₁ e M₂: manômetros; B₁: banho frio; B₂: banho quente; P: bomba pneumática; C-E: célula de extração; Us-S: sonda de US, Us-C: controlador da sonda de US; Tc: tubo coletor; It: indicador de temperatura; V₁, V₂ e V₃: válvulas de bloqueio; V₄: válvula micrométrica; Ct: controlador de temperatura; Mv: medidor de vazão de CO₂; Mt: medidor de vazão total de CO₂



Figura 3.5 – Unidade experimental de ESC-CO₂ acoplada com US do LAPEA - UNICAMP

Para um melhor entendimento da metodologia utilizada na obtenção de RBO, em escala laboratorial, empregando um sistema de ESC-CO₂ + US, o procedimento operacional do processo foi descrito a seguir. As condições de pressão e temperatura foram fixas em 250 bar e 40 °C, respectivamente.

Procedimento operacional das extrações com CO₂ supercrítico + US:

- Inicialmente o banho termostático (B₁), conectado à bomba peristáltica (P), era acionado na temperatura de -8 °C, para manter constante a temperatura de alimentação do solvente, e o banho maria (B₂) acionado na temperatura de operação pré-determinada;
- As válvulas (V₁, V₂, V₃ e V₄) eram verificadas se estavam fechadas;
- Em seguida, a célula de extração (C-E) era preenchida da seguinte maneira: na base era colocada uma camada de lã de vidro (aproximadamente 5 cm) para evitar o entupimento da linha de extração, tendo em vista a pequena granulometria do farelo e a elevada potência do US, e então a célula era preenchida com 20 g de farelo misturado com 400 g de esferas de vidro, de modo a evitar um empacotamento do leito;

- Após acoplar a célula no sistema, a manta de aquecimento (Ct-1) era conectada à célula e acionada a 40 °C;
- Logo, abria-se a válvula V₁ e V₂ e ajustava-se a bomba pneumática (P) a 250 bar;
- O controlador de temperatura (Ct-2) era acionado a 135 °C para evitar o congelamento da válvula micrométrica (V₄) durante a extração, devido à expansão do CO₂;
- Estabilizada a pressão e temperatura de trabalho, a sonda de US (Us-S) era ativada, a partir do controlador (Us-C), na potência e pelo tempo de aplicação pré-determinado;
- Em seguida, dava-se início a extração abrindo a válvula V₃ e ajustando a válvula micrométrica (V₄);
- Os extratos eram coletados em frascos de vidro (Tc) e o CO₂ liberado para a atmosfera sob condições ambientais;
- As extrações foram conduzidas por 2 horas com uma vazão de 14,82 gCO₂.min⁻¹ a qual era controlada a partir do medidor de vazão de CO₂ de baixa pressão (Mv), localizado na saída do sistema.
- Após o término das extrações as amostras eram congeladas para posterior análise de atividade antioxidante e caracterização química.

As condições de potência e tempo de aplicação do US na ESC foram avaliadas de 160-320 W e de 40-120 min, respectivamente. A tabela 3.3 apresenta o planejamento fatorial 2², com triplicata no ponto central, utilizado para as extrações com CO₂ supercrítico assistido por US.

Tabela 3.3 – Planejamento experimental fatorial 2² com triplicata no ponto central das extrações de RBO com CO₂ supercrítico assistidas por US

Experimento	Potência (W)	Tempo de aplicação (min)
1	160 (-1)	40(-1)
2	160 (-1)	120 (+1)
3	320 (+1)	40 (-1)
4	320 (+1)	120 (+1)
5	240 (0)	80 (0)

3.2.3. Extração com gás liquefeito de petróleo (GLP) comprimido

Os experimentos foram realizados na unidade experimental de extração do Laboratório de Bioprocessos do PPGEPro da UFSM (Santa Maria – Rio Grande do Sul), apresentada no item 3.2.1. A unidade era composta basicamente de um cilindro de solvente (GLP) de procedência da empresa Ultragás, uma célula/extrator (encamisada) de aço inox com volume interno de 100 mL, uma bomba de alta pressão do tipo seringa (ISCO, modelo 500D) e dois banhos termostáticos (Quimis, modelo Q214M2), como mostra o diagrama esquemático apresentado na figura 3.6.

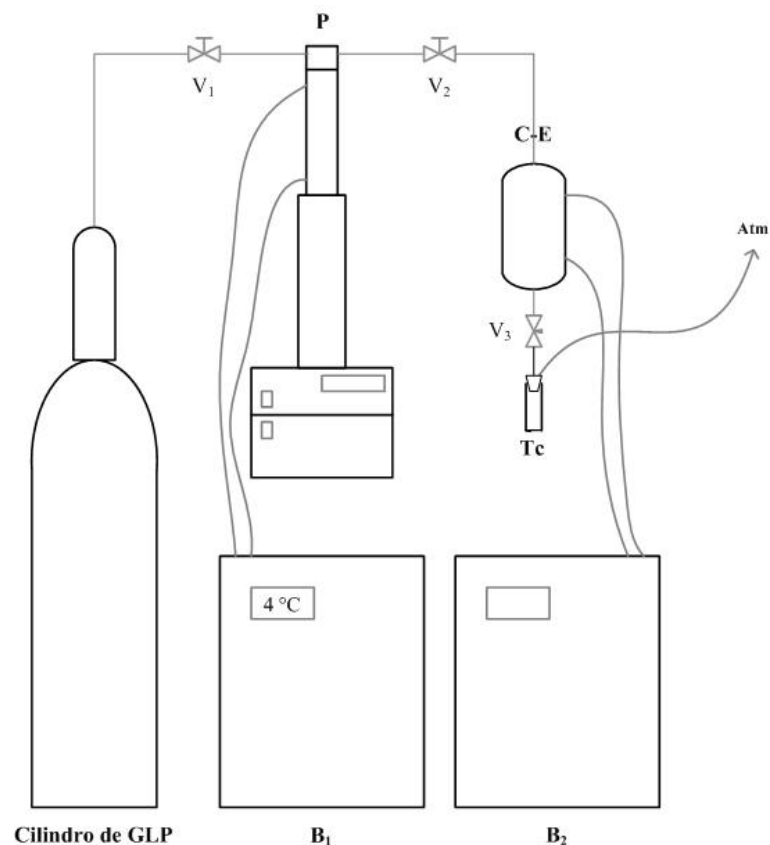


Figura 3.6 – Diagrama esquemático da unidade experimental de extração com GLP comprimido

B₁: banho frio; B₂: banho quente; P: bomba de alta pressão; C-E: célula de extração; Tc: tubo coletor; V₁ e V₂: válvulas de bloqueio; V₃: válvula micrométrica

Para uma melhor elucidação da metodologia utilizada na obtenção de RBO, em escala laboratorial, empregando um sistema de extração com GLP comprimido, o procedimento operacional do processo foi descrito a seguir:

- Inicialmente, o banho termostático B_1 era acionado na temperatura de $4\text{ }^\circ\text{C}$ para resfriamento da bomba de alta pressão e manter constante a temperatura de alimentação do solvente;
- As válvulas (V_1 , V_2 e V_3) eram verificadas se estavam fechadas;
- Logo, a célula de extração (C-E) era carregada com 20 g de farelo de arroz e acoplada na unidade;
- O banho termostático B_2 era conectado à célula e acionado na temperatura de operação pré-determinada;
- Após os banhos atingirem as determinadas temperaturas o solvente (GLP) era fornecido ao sistema, abrindo-se as válvulas V_1 e V_2 , por aproximadamente 15 minutos. No término dos 15 minutos a válvula V_1 era fechada;
- Logo, dava-se início a pressurização do sistema a partir da bomba de alta pressão (P), conforme a pressão pré-determinada;
- Estabilizada a pressão e temperatura de trabalho, o sistema era mantido estático por 20 minutos;
- Em seguida dava-se início a extração abrindo manualmente a válvula micrométrica (V_3);
- Os extratos eram coletados em frascos de vidro (Cb) juntamente com o GLP, o qual era queimado após o término da extração, a fim de separá-lo do extrato (O GLP volatilizado durante a extração era enviado para o ambiente);
- As extrações foram conduzidas por 5 minutos com uma vazão de $4\text{ g}_{\text{GLP}}\cdot\text{min}^{-1}$, a qual era controlada na bomba de alta pressão;
- Após o término das extrações as amostras eram congeladas para posterior análise de atividade antioxidante e caracterização química.

As condições de temperatura e pressão de extração foram avaliadas de $20\text{-}40\text{ }^\circ\text{C}$ e de $5\text{-}25\text{ bar}$, respectivamente. A tabela 3.4 apresenta o planejamento fatorial 2^2 , com triplicata no ponto central, utilizado para as extrações com GLP comprimido.

Tabela 3.4 – Planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central das extrações de RBO com GLP comprimido

Experimento	Pressão (bar)	Temperatura (°C)
1	5 (-1)	20 (-1)
2	5 (-1)	40 (+1)
3	25 (+1)	20 (-1)
4	25 (+1)	40 (+1)
5	15 (0)	30 (0)

3.3. Determinação do rendimento global (X_0) e da recuperação de RBO (R_0)

Para avaliar os processos de extração supercrítica, extração supercrítica assistida por ultrassom e extração com GLP comprimido, foram investigados os efeitos de temperatura (40-80 °C) e de pressão (150-250 bar); potência (160-320 W) e tempo de aplicação (40-120 min) do US, e; temperatura (20-40 °C) e de pressão (5-25 bar), respectivamente, no rendimento global de extrato e na recuperação do RBO.

O rendimento global (X_0) de óleo extraído foi calculado como a razão entre a massa total de óleo extraído e a massa inicial de farelo de arroz (Equação 3.2). Já a recuperação de RBO (R_0) foi determinada pela razão entre a massa total de óleo extraída em cada processo e a massa de óleo extraída por Soxhlet (Seção 3.1.4) (Equação 3.3).

$$X_0 = \frac{m_e}{m_f} \times 100 \quad (3.2)$$

$$R_0 = \frac{m_e}{m_{\text{Soxhlet}}} \times 100 \quad (3.3)$$

Onde: X_0 é o rendimento global de óleo extraído (% m/m); R_0 é conteúdo de óleo recuperado (% m/m); m_e é a massa total de óleo extraída nos processos de estudo (g); m_f é a massa inicial de farelo (g) e m_{Soxhlet} é a massa de óleo obtida por Soxhlet (g).

3.4. Curvas globais de extração

As curvas globais de extração (OEC - overall extraction curves) foram determinadas a partir dos valores de massa extraída acumulada em função do tempo. Para isso, durante as extrações, as amostras eram discretizadas em diferentes intervalos (dependendo do processo) para quantificação da massa extraída. As OECs fornecem informações sobre o comportamento cinético da extração, possibilitando a determinação da condição mais viável para um processo de ESC.

3.5. Análise estatística

Os experimentos de ESC-CO₂, ESC-CO₂ + US e extração com GLP comprimido foram avaliados utilizando o planejamento fatorial 2² com triplicata no ponto central. A análise estatística dos dados experimentais de cada processo foi realizada a partir da avaliação do gráfico de Pareto gerado pelo software Statistica 8. Um nível de significância de 5% foi utilizado em todas as análises conduzidas.

3.6. Caracterização química dos extratos

A caracterização química dos extratos obtidos nos diferentes processos foi analisada em Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massa (CG-EM) pelo Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas - NAPO da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. Para esta análise, os extratos foram diluídos em etanol a uma concentração de 0,01 g.mL⁻¹.

Os extratos foram analisados utilizando um cromatógrafo gasoso (HP6890) acoplado com um detector seletivo de massa GC/MS (HP 5973) com um sistema de injeção automático (HP 6890), utilizando uma coluna capilar HP-5MS (30m x 0,32mm, 0,25 μ m). Hélio foi utilizado como gás de arraste com uma vazão de 2 mL.min⁻¹ a uma pressão de 5,05 psi, modo impacto eletrônico de 70 eV. Amostras de 1 mL foram injetadas a 250 °C de temperatura de interface, com a seguinte coluna de programação gradiente de temperatura: 70 °C (1 min); 12 °C.min⁻¹ até 280 °C.

3.7. Atividade antioxidante dos extratos

O potencial antioxidante dos extratos obtidos nos três processos de extração foi avaliado pelo método do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). O método do radical DPPH tem sido muito utilizado para determinar a capacidade antioxidante de extrato de farelo de arroz (JUN et al, 2012; ARAB et al, 2011; MANOSROI et al, 2010). Esta técnica se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre e estável, o DPPH• (DUARTE-ALMEIDA et al, 2006). O efeito antioxidante é proporcional ao desaparecimento do DPPH• nas amostras de testes (LAOKULDILOK et al, 2011). Com base nesse princípio, o efeito de eliminação de radicais dos extratos de farelo de arroz, obtidos nos diferentes processos de extração, foi medido e expresso em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•.

Para a determinação da atividade antioxidante dos extratos pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•- 2,2-difenil-1-picrilhidrazila) as amostras de óleo de farelo de arroz foram diluídas em etanol a uma concentração de 0,01 g_{óleo}.mL⁻¹_{etanol}. A metodologia foi conduzida da seguinte maneira: 1500 μ L da amostra diluída foram adicionadas a 1480 μ L da solução de DPPH e 20 μ L de etanol. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra contendo 1500 μ L da amostra diluída e 1500 μ L de etanol, e um branco para o DPPH contendo 1480 μ L de DPPH e 1520 μ L de etanol. Após 30 minutos de reação sob abrigo da luz, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS (UV-2600, Shimadzu) a 522 nm. A porcentagem da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi calculada conforme equação 3.4.

$$AA_{DPPH} = \left(\frac{A_{DPPH}(A - A_B)}{A_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (3.4)$$

Onde, A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH, A e A_B são as absorvâncias da amostra e branco, respectivamente. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.8. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A estrutura das amostras de farelo de arroz *in natura*, após a ESC usando CO_2 e após a ESC usando CO_2 assistida por US foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A técnica foi desenvolvida pelo Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) (Campinas – São Paulo), utilizando um microscópio eletrônico de varredura equipado com um canhão de emissão de campo (FESEM - FEI Quanta 650).

Preliminarmente um teste utilizando microscópio óptico foi realizado para avaliar a homogeneidade das partículas. Uma vez que estas partículas não apresentaram diferenças, as amostras foram consideradas homogêneas. Em seguida, as amostras foram cobertas com ouro (Au) em um metalizador SCD 050 (Oerlikon-Balzers, Balzers, Liechtenstein) e, então, analisadas no MEV. As análises das superfícies das amostras foram realizadas sob vácuo, com uma tensão de aceleração de 5 kV. Aproximadamente, 20 imagens foram obtidas em diferentes áreas de cada amostra para garantir a representatividade dos resultados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da matéria-prima

A caracterização do farelo de arroz utilizado nos processos de extração de óleo apresenta-se na tabela 4.1. O teor de óleo e de umidade no farelo utilizado neste estudo foi de 15,44% (m/m) e 11,20% (m/m), respectivamente. Gunawan et al (2006) obtiveram resultados semelhantes, onde o teor de óleo foi de 16,71% e de umidade 10,51%. Quanto ao tamanho das partículas, o diâmetro médio determinado em 320,12 μ m encontra-se na faixa de tamanho das partículas de farelo caracterizadas por Imsanguan et al (2008) (297–595 μ m) e Tomita et al (2014) (250–355 μ m).

Tabela 4.1 – Caracterização do farelo de arroz utilizado nos processos de extração de óleo

Teor de óleo (%)	Umidade (%)	Diâmetro médio (μ m)	Densidade (g.cm^{-3})
15,44 ($\pm 0,01$)	11,20	320,12	1,38 ($\pm 0,01$)

4.2. Extração com CO₂ Supercrítico

4.2.1. Rendimento global e recuperação de RBO

Os resultados de rendimento e recuperação de óleo de farelo de arroz nas diferentes condições de temperatura e pressão das ESCs-CO₂ estão apresentados na tabela 4.2. O maior rendimento (12,68%) e recuperação (82,12%) de extrato foram alcançados na condição 40 °C/250 bar, enquanto que o menor rendimento (0,70% m/m) e recuperação (4,53%) foram obtidos a 80 °C/150 bar.

A figura 4.1 mostra que a maior e a menor porcentagem de rendimento de extrato foram obtidas nas condições de maior e menor densidade do solvente, indicando que na faixa

de pressão e temperatura estudada é a densidade que influencia na solubilidade do óleo no CO₂. Observa-se, também, que embora o experimento 4 tenha apresentado a segunda menor densidade, esta condição resultou em um rendimento semelhante ao experimento 3, o que pode ser explicado pela influência da pressão de vapor do soluto em condições de pressão mais elevadas, resultando no aumento da solubilidade do extrato com o aumento da temperatura. Wang et al (2008) sugerem a hipótese de que o rendimento de extração de RBO é influenciado pela densidade do CO₂ em pressões supercríticas abaixo de 270 bar e pela pressão de vapor do soluto em pressões acima de 270 bar.

Wang et al (2008) avaliaram as condições de temperatura (40-60 °C) e pressão (250-350 bar) na ESC-CO₂ de RBO, onde obtiveram o melhor resultado na condição 40 °C/350 bar, com 17,5% de rendimento e 87,5% de recuperação. Enquanto que Tomita et al (2014) conseguiram resultados ainda maiores avaliando a pressão (200-400 bar) e a temperatura (40-80 °C) de extração, onde alcançaram o maior rendimento e recuperação, de 24,1% e 108,1%, respectivamente, na condição 80 °C/300 bar.

Tabela 4.2 – Rendimento de RBO nas ESC-CO₂ conduzidas por 4 horas e com vazão de 4 g_{CO2}.min⁻¹

Experimento	Condição de extração (bar/°C)	Densidade (kg.m⁻³)	Rendimento global (% , m.m⁻¹)	Recuperação de óleo (% , m.m⁻¹)
1	150/40	792,33	9,89	64,05
2	150/80	432,19	0,70	4,53
3	250/40	892,86	12,68	82,12
4	250/80	691,82	12,24	79,27
5	200/60	732,43	10,07 ± 0,17	65,22

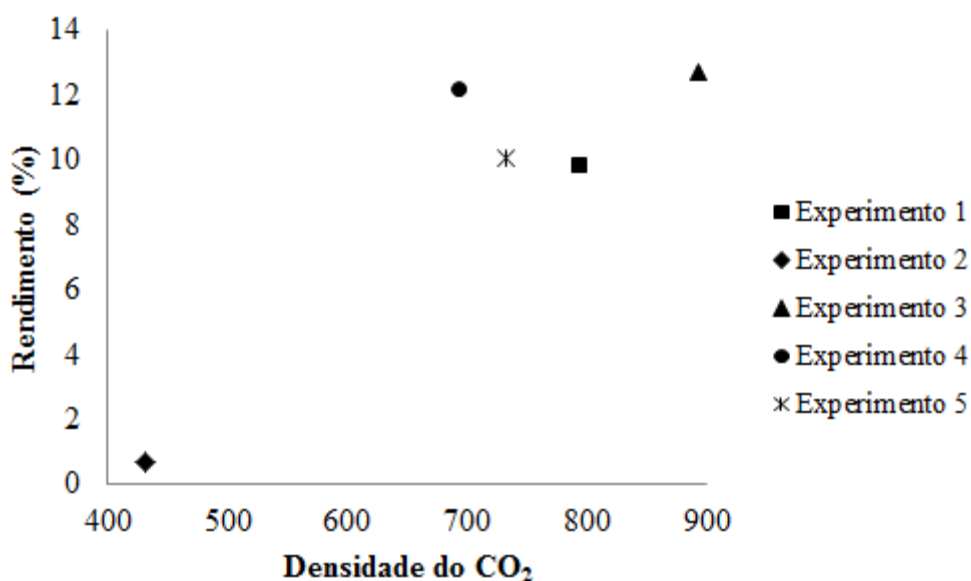


Figura 4.1 – Influência da densidade do CO₂ nos rendimentos globais de extração

A recuperação de 82,12% de RBO obtida neste trabalho mostra que o processo de ESC-CO₂ obteve uma boa eficiência, uma vez que o n-hexano tem capacidade de extrair compostos de massa molecular mais elevada e sem interesse biológico, como a cera, fosfolipídios, pigmentos e metais traço (ferro e cobre), os quais são dificilmente extraídos na ESC (BALACHANDRAN et al, 2008).

4.2.2. Efeito da temperatura e pressão

A solubilidade do RBO e, conseqüentemente, o rendimento e a recuperação dos extratos, são funções das condições de pressão e temperatura na ESC-CO₂. A figura 4.3 apresenta a influência da pressão e da temperatura no rendimento dos extratos de farelo de arroz.

Observa-se na figura 4.3 que o aumento da pressão de 150 para 250 bar, tanto a 40 °C como a 80 °C, resultou em um aumento do rendimento de extrato e na taxa de extração. Este efeito deve-se ao aumento da densidade e do poder de solvatação do solvente que ocorre com o aumento da pressão, o que conseqüentemente aumenta a solubilidade do RBO no CO₂. Este efeito também foi identificado nos trabalhos de Kim et al (1999), Danielski et al (2005) e

Wang et al (2008).

A temperatura de extração influencia na densidade do fluido e na pressão de vapor do soluto (extrato), dependendo da intensidade da pressão de operação. A figura 4.3 mostra que o aumento da temperatura de 40 para 80 °C, nas pressões de 150 e 250 bar, respectivamente, diminuiu o rendimento de RBO, o que atribui-se ao decréscimo na densidade do solvente com o aumento da temperatura, que por conseguinte diminui a solubilidade do óleo no CO₂. Tomita et al (2014) e Wang et al (2008) também observaram esse efeito quando analisaram o aumento da temperatura de 40 a 80 °C a uma pressão de 200 bar e de 40 a 60 °C à uma pressão de 250 bar, respectivamente.

A influência destas variáveis no processo foi confirmada pela análise estatística, apresentada na forma de gráfico Pareto (Figura 4.2), o qual determina os efeitos das variáveis, pressão e temperatura, no rendimento global de RBO utilizando CO₂ supercrítico. De acordo com o gráfico a interação entre as duas variáveis foram significativas com 95% de confiança, mostrando que o aumento de ambas as variáveis leva ao maior rendimento. A pressão foi significativa positivamente, indicando que o aumento da pressão aumenta o rendimento global de RBO, enquanto que a temperatura foi significativa negativamente, indicando que o aumento da temperatura diminui o rendimento de extrato.

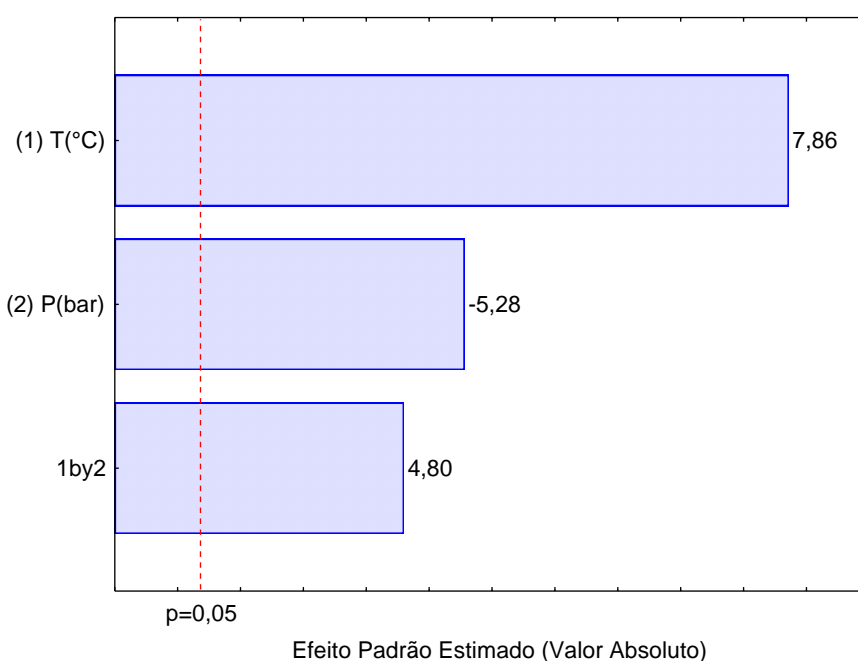


Figura 4.2 – Efeitos para as variáveis, temperatura (T) e pressão (P), estudadas nas ESCs-CO₂ de RBO

4.2.3. Cinética de extração

As curvas globais de extração no processo de ESC foram geradas pelo rendimento de massa acumulada de RBO em função do tempo de extração, como apresenta a figura 4.3. Os dados das curvas podem ser vistos no Apêndice A. Observa-se, na figura 4.3, que na condição de extração 40 °C/250 bar foi obtido um rendimento máximo em apenas 75 minutos de extração, ou seja, a taxa de extração nesta condição foi significativamente maior. Isto ocorre porque com maior pressão e menor temperatura, a densidade aumenta, e o óleo é facilmente extraído e dissolvido na fase fluida devido ao aumento do poder de solvatação do CO₂.

De um modo geral, pode-se observar na figura 4.3 que o aumento da temperatura em pressões constantes, ocasiona um decréscimo na taxa de extração. No entanto, sob a pressão constante a 150 bar, o aumento da temperatura, de 40 a 80 °C, diminuiu drasticamente a taxa de extração, resultando em uma queda no rendimento final de 9,89% a 0,70%. Um resultado semelhante foi obtido no trabalho de Tomita et al (2014), onde foi observado que o aumento da temperatura de 40 a 80 °C, em uma pressão de 200 bar, diminuiu significativamente a taxa de extração e o rendimento final de RBO (de 21,6% a 16,4%).

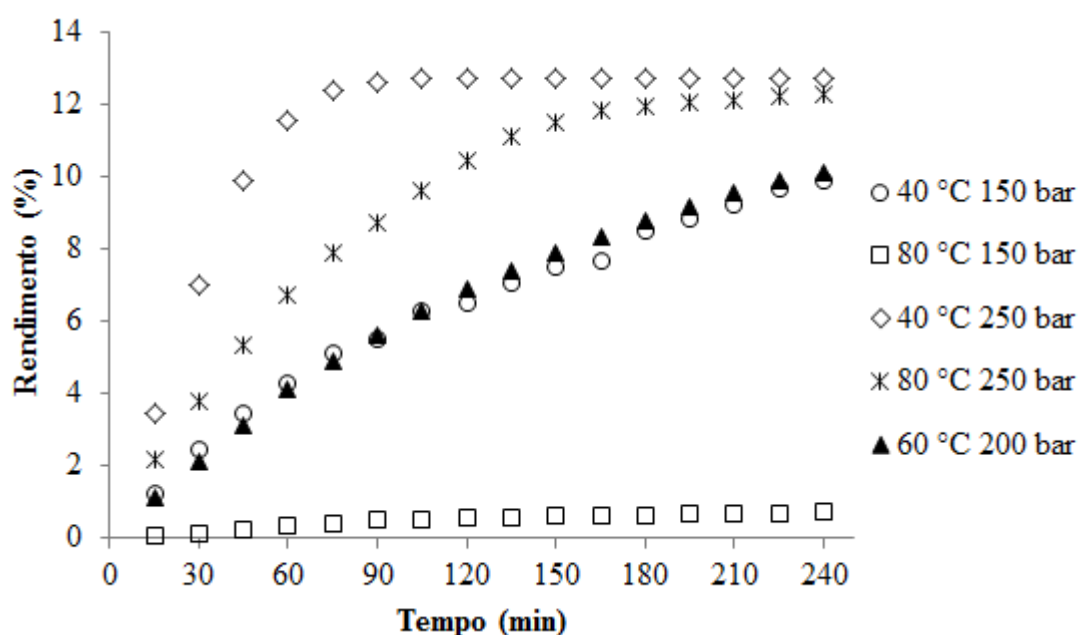


Figura 4.3 – Curvas cinéticas de ESC-CO₂ de RBO em diferentes condições de temperatura e pressão

4.2.4. Caracterização química dos extratos

A tabela 4.3 apresenta os compostos químicos identificados por CG-EM, dos extratos obtidos no processo de ESC-CO₂, e seus respectivos tempos de retenção. Os cromatogramas indicaram a presença de ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2), ácido palmítico (16:0), ácido láurico (12:0) e β -sitosterol (1). A massa molecular dos ácidos graxos encontrados no RBO (palmítico, oleico e linoleico) foi proporcional ao tempo de retenção dos mesmos. Esses compostos também foram os principais ácidos graxos encontrados nos extratos de farelo de arroz obtidos por ESC-CO₂ nos trabalhos realizados por Kim et al (1999), Danielski et al (2005) e Balachandran et al (2008).

O β -sitosterol, um dos principais esteróis que compõem o γ -orizanol, com potencial antioxidante, foi identificado nas condições 4 (250 bar/80 °C) e 5 (200 bar/60 °C), não sendo identificado na condição 3, a qual apresentou maior rendimento global de extrato. De um modo geral, pode-se observar que este composto foi identificado nas condições de maior pressão e temperatura, uma vez que o aumento da pressão aumenta o poder de solvatação do fluido e o aumento da temperatura diminuiu a viscosidade e aumenta a difusividade do CO₂. Nos trabalhos de Wang et al (2008) e Imsanguan et al (2008) o aumento da pressão aumentou a eficiência de extração do orizanol, devido ao aumento da densidade e, conseqüentemente, da solubilidade dos compostos no CO₂. Os autores também identificaram que o aumento da temperatura, em pressões elevadas (>250 bar), resultou em um aumento no rendimento de orizanol.

Tabela 4.3 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos por ESC-CO₂

Condição experimental	Tempo de retenção dos compostos identificados				
	16:0	18:2	18:1	12:0	1
1 – 150 bar/40 °C	13,991	15,140	15,165	21,890	
3 – 250 bar/40 °C	13,979	15,121	15,140	22,363	
4 – 250 bar/80 °C	13,985	15,133	15,152		21,253
5 – 200 bar/60 °C	13,992	15,133	15,159		21,278

Ácido palmítico (16:0); ácido linoleico (18:2); ácido oleico (18:1); ácido láurico (12:0); β -sitosterol (1).

4.2.5. Atividade antioxidante dos extratos

A tabela 4.4 apresenta a atividade antioxidante dos extratos ($0,01 \text{ g.mL}^{-1}$) obtidos nas diferentes condições de ESC-CO₂, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH. Não foi possível realizar a análise do extrato obtido no experimento 2 devido à massa insuficiente de extrato obtido nessa condição.

A condição de menor atividade antioxidante foi a 250 bar/40 °C ($54,55 \pm 1,93$), enquanto que as que apresentaram maior potencial foram a 200 bar/60 °C ($71,67 \pm 2,45$) e a 250 bar/80 °C ($68,24 \pm 2,68$). O maior potencial obtido nessas duas condições pode ser explicado pela presença do composto antioxidante β -sitosterol identificado na CG-EM.

Arab et al (2011) analisaram a atividade antioxidante, pelo método de radical DPPH, de extratos de farelo de arroz ($0,05 \text{ g.mL}^{-1}$) obtidos pela técnica de extração convencional utilizando metanol, etanol e acetato de etila, onde alcançaram, aproximadamente, 90, 70 e 40% de potencial antioxidante, respectivamente. Jun et al (2012) alcançaram percentuais de atividade antioxidante de 10,5-51,0%, de 13,7-48,3% e de 35,0 a 45,8% para extratos farelo de arroz ($0,025 \text{ g.mL}^{-1}$) obtidos por extração com acetona, etanol e metanol, respectivamente.

Tabela 4.4 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO₂ expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

Experimento	Condição de extração (bar/°C)	Atividade antioxidante (%)
1	150/40	$55,94 \pm 2,30$
2	150/80	-
3	250/40	$54,55 \pm 1,93$
4	250/80	$68,24 \pm 2,68$
5	200/60	$71,67 \pm 2,45$

A figura 4.4 mostra a comparação entre o potencial antioxidante e o rendimento global obtido nas diferentes condições experimentais. Pode-se observar que, embora a condição 3 tenha apresentado maior rendimento de RBO, esta condição foi a que indicou menor potencial

antioxidante. Já as condições 4 e 5, onde foram alcançados rendimentos de 12,24 e 10,07 %, respectivamente, revelaram maior atividade antioxidante.

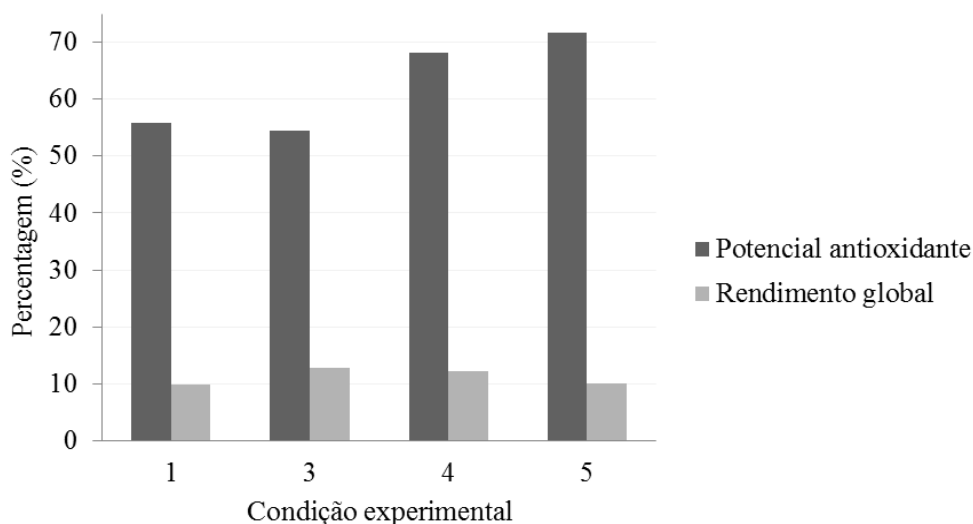


Figura 4.4 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO₂

4.2.6. Influência da massa de matéria-prima nos perfis cinéticos das ESCs

O estudo da influência da massa de matéria-prima no processo de extração supercrítica de RBO, em nível laboratorial, foi avaliado aumentando a massa de farelo em até 5 vezes. As condições de temperatura e pressão fixas em 40 °C e 250 bar (condição de maior rendimento global nos experimentos apresentados na Seção 4.2.1) e a vazão de CO₂ fixa em 4 gCO₂.min⁻¹.

A tabela 4.5 apresenta a relação solvente/matéria-prima (S/F) e o rendimento de extrato obtido nas ESCs utilizando diferentes quantidades de farelo, além dos tempos de extração e da quantidade de solvente utilizada. Observa-se, na tabela 4.5, que os rendimentos de RBO no final das extrações foram semelhantes. No entanto, o tempo de extração e a quantidade de solvente para obter estes rendimentos aumentaram gradativamente com o aumento da massa de farelo. Isto pode ser explicado pela vazão de CO₂ ter sido mantida a mesma em todos os experimentos, o que influenciou, também, no decréscimo da relação S/F com o aumento da massa de farelo.

Tabela 4.5 – Relação S/F e rendimento de RBO nas ESCs, a 40 °C e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO₂ fixa em 4 g.min⁻¹

Experimento	Massa de farelo (g)	Tempo de extração (min)	Massa de solvente (g)	Relação S/F (m _{CO2} /m _{farelo})	Rendimento global (%)
1	10	105	420	42,0	12,68
2	20	180	720	36,0	12,58
3	30	240	960	32,0	12,76
4	40	300	1200	30,0	12,09
5	50	330	1320	26,4	12,44

A figura 4.5 mostra a influência da relação S/F nas ESCs. Pode-se notar, na tabela 4.5 e na figura 4.5, que a menor razão S/F utilizada (26,4 m_{CO2}/m_{farelo}) foi suficiente para extrair uma quantidade de extrato semelhante aos demais experimentos. No entanto, o decréscimo na razão S/F resultou no aumento do tempo de extração, o que influencia negativamente no processo.

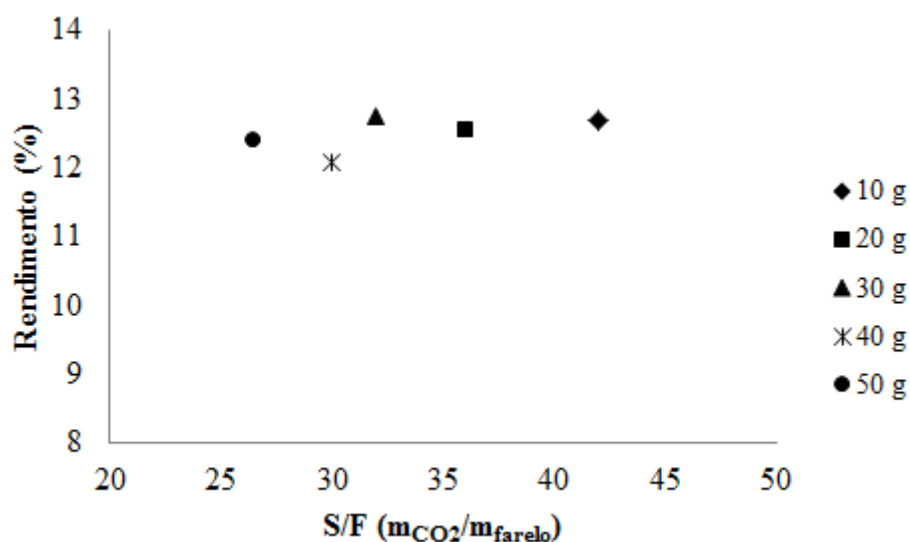


Figura 4.5 – Influência da relação S/F nas ESCs, a 40 °C e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO₂ fixa em 4 g.min⁻¹

A figura 4.6 apresenta os perfis cinéticos das ESCs-CO₂ utilizando diferentes massas de farelo. Pode-se analisar que o aumento da massa de farelo diminuiu a taxa de extração, ou seja, desacelerou o processo, sendo necessário um tempo maior para que o solvente solubilize e extraia o soluto da matriz sólida.

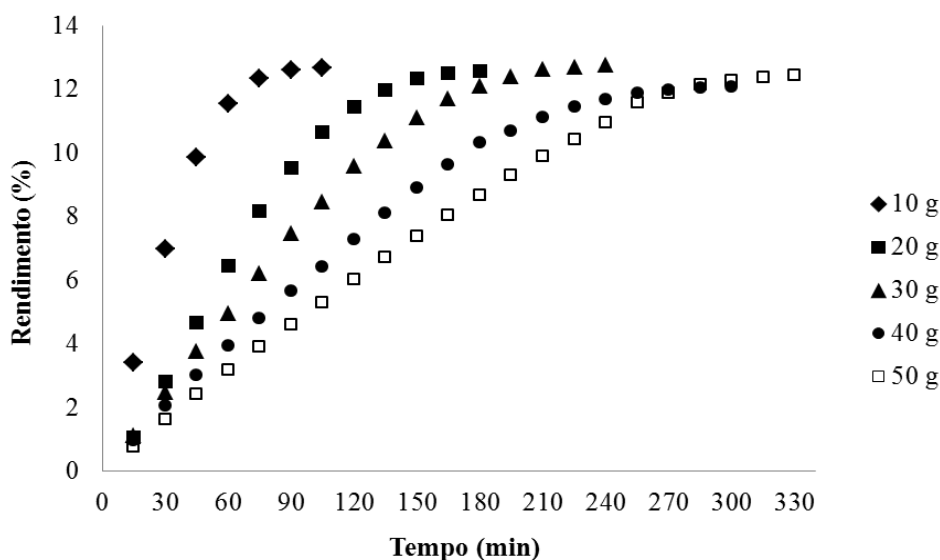


Figura 4.6 – Perfis cinéticos das ESCs, a 40 °C e 250 bar, utilizando diferentes massas de matéria-prima e vazão de CO₂ fixa em 4 g.min⁻¹

4.3. Extração com CO₂ supercrítico assistida por ultrassom

4.3.1. Rendimento global e recuperação de RBO

A tabela 4.6 apresenta o rendimento global de RBO obtido no processo de ESC-CO₂ com e sem aplicação de US, onde as variáveis temperatura e pressão foram fixadas em 40 °C e 250 bar, respectivamente.

Nas extrações assistidas por US (frequência de 20 kHz), o maior rendimento e recuperação de extrato (12,65%; 81,93%) foi alcançado aplicando uma potência de 160 W por 40 min, enquanto que o menor rendimento e recuperação (11,13%; 72,08%) foi utilizando

uma potência de 320 W por 40 min. Tendo em vista que utilizando a menor potência e o menor tempo de aplicação do US obteve-se maior rendimento de extrato, tem-se uma condição (160 W; 40 min) que beneficia o processo do ponto de vista energético.

Na ESC assistida por US de maior rendimento, obteve-se um rendimento de aproximadamente 27% superior a extração sem aplicação de US, para um mesmo tempo de extração (2 horas). Isto se deve ao efeito das ondas ultrassônicas no processo de extração, devido à vibração que ocorre nas interfaces entre a matriz sólida e o solvente. Trabalhos anteriores apresentaram valores semelhantes, Riera et al (2004) alcançaram um rendimento 20% superior de óleo de amêndoa, enquanto que Balachandran et al (2006) e Santos et al (2015), obtiveram aproximadamente 30% de aumento no rendimento global de extrato de gengibre e de pimenta malagueta, respectivamente.

Tabela 4.6 – Rendimento de RBO nas ESC-CO₂ com e sem aplicação de US conduzidas por 2 horas e com vazão de 14,82 gCO₂.min⁻¹

Experimento	Condição de extração (W/min)	Rendimento Global (% , m.m⁻¹)	Recuperação de óleo (% , m.m⁻¹)
1	160/40	12,65	81,93
2	160/120	12,58	81,48
3	320/40	11,13	72,08
4	320/120	11,72	75,91
5	240/80	12,10	78,37
6	Sem US	9,94	64,38

4.3.2. Efeito da potência e do tempo de aplicação de US

A figura 4.8 apresenta a influência da potência e tempo de aplicação do US, acoplado à ESC-CO₂, no rendimento dos extratos de farelo de arroz. A figura 4.8 mostra que o aumento da pressão, de 160 para 320 W, diminuiu o rendimento de extração, e que o tempo de aplicação do US não apresentou influência considerável durante as extrações.

Hu et al (2007) reportaram que, para uma dada forma e área fixa de radiação, a vibração é proporcional à potência do ultrassom, ou seja, quanto maior for a potência do ultrassom mais forte serão as vibrações, aumentando o rendimento de extração, o que foi evidenciado nos trabalhos de Balachandran et al (2006), Hu et al (2007) e Gao et al (2009). No entanto, pode-se observar na figura 4.8 que, neste estudo, os rendimentos obtidos com a potência de 160 W foram maiores do que com 320 W. Este resultado pode ser explicado pelo fato do US causar um empacotamento do leito, podendo formar caminhos preferenciais pelo solvente. Este empacotamento foi notado na abertura da célula após os processos de extração nessas condições. Além disso, outros testes realizados mostraram que potências maiores que 320 W causavam um entupimento da linha de extração, provavelmente pelo farelo apresentar uma granulometria muito baixa ($\approx 320 \mu\text{m}$) e as potências serem demasiadamente altas, fazendo com que as partículas de farelo fossem carregadas junto com o solvente.

A figura 4.7 apresenta os efeitos das variáveis estudadas (potência e tempo de aplicação de US) no rendimento de extração de RBO a partir das ESCs assistidas por US. De acordo com o gráfico as variáveis e a interação entre as mesmas não foram estatisticamente significativas (dentro da faixa estudada), embora o aumento da pressão tenha mostrado uma tendência em influenciar negativamente no rendimento global das extrações. Na prática, qualquer condição do planejamento experimental resulta em rendimentos similares. É importante ressaltar que os rendimentos obtidos em todas as condições experimentais foram maiores que aqueles obtidos somente com CO_2 supercrítico.

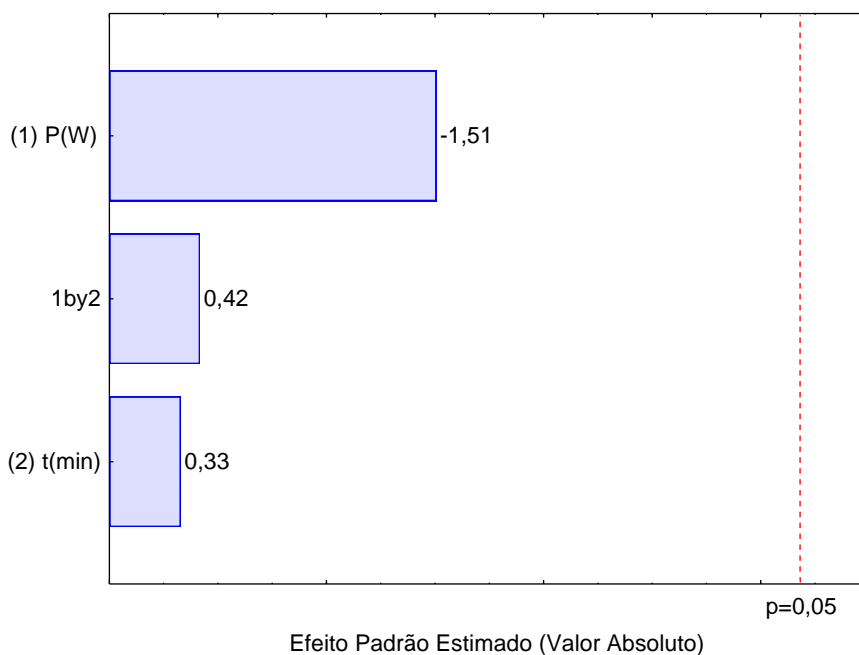


Figura 4.7 – Efeitos para as variáveis, potência (P) e tempo de aplicação de US (t), estudadas nas ESCs-CO₂ + US de RBO

4.3.3. Cinética de extração

As curvas cinéticas de extração do processo de ESC-CO₂ + US foram expressas pelo rendimento de massa de extrato acumulada em função do tempo de extração, como apresenta a figura 4.8. Os dados das curvas cinéticas podem ser vistos no Apêndice B. Observa-se, na figura 4.8, que nas ESC assistidas por US ocorre um aumento na taxa de extração desde os primeiros minutos, o que também foi constatado no trabalho de Balachandran et al (2006). Este resultado indica que as ondas ultrassônicas aceleram o processo de transferência de massa, influenciando na fase convectiva de extração e, conseqüentemente, resultando em maiores rendimentos de extrato.

Pode-se observar, também, que na condição que apresentou maior rendimento (160 W; 40 min), quando comparado à ESC sem US, o tempo de extração foi reduzido em aproximadamente 58%, ou seja, o rendimento final da extração sem US foi alcançado em apenas 50 min de extração na condição 160 W/40 min. Riera et al (2004) obtiveram uma redução no tempo de extração de óleo de amêndoa de aproximadamente 30%, onde foi

utilizada uma pressão de 280 bar, temperatura de 55 °C, frequência de 20 kHz e potência de 50 W.

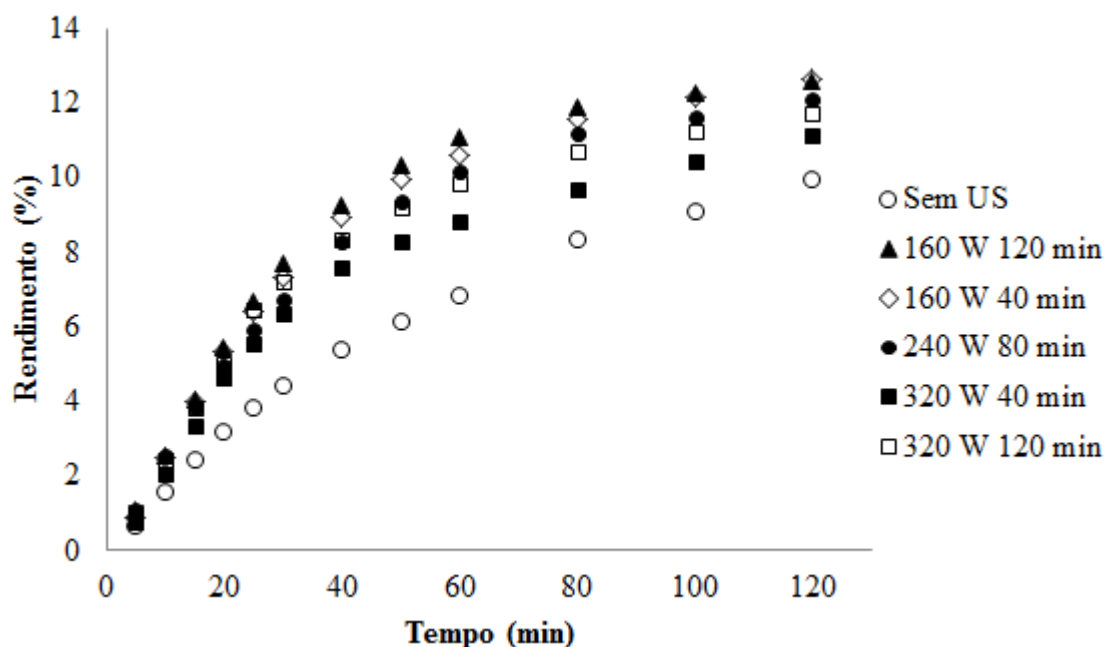


Figura 4.8 – Curvas cinéticas de ESC-CO₂ + US de RBO em diferentes condições de potência e tempo de aplicação de US

4.3.4. Caracterização química dos extratos

A tabela 4.7 apresenta os compostos químicos, identificados por CG-EM, dos extratos obtidos no processo de ESC-CO₂ assistido por US, e seus respectivos tempos de retenção. Os cromatogramas indicaram a presença de ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2), ácido palmítico (16:0), ácido láurico (12:0), β -sitosterol (1), 24-metilenocicloartenol (2) e estigmasterol (3).

A condição experimental 1 (160 W/40 min), que apresentou maior rendimento e recuperação de extrato, foi a única condição onde foi identificada a presença de três esteróis que compõem o orizanol (β -sitosterol, 24-metilenocicloartenol e estigmasterol). Na condição controle, sem aplicação de US, só foi encontrado o β -sitosterol como composto antioxidante.

Na condição 4 (320 W/120 min) não foi identificado nenhum composto com potencial antioxidante.

Tabela 4.7 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos por ESC-CO₂ com e sem US

Condição experimental	Tempos de retenção dos compostos identificados						
	18:1	18:2	16:0	12:0	1	2	3
1 – 160W/40min	14,036	15,108	15,114		21,272	15,821	19,127
2 – 160W/120min		15,102	15,108	15,020	21,284	15,846	
3 – 320W/40min		15,108	15,114	15,688			
4 – 320W/120min	14,017	15,114	15,121		21,316		
5 – 240W/80min	14,042		15,114	17,726	21,303		19,177
Controle	14,023	15,095	15,114	15,897	21,303		

Ácido palmítico (16:0); ácido linoleico (18:2); ácido oleico (18:1); ácido láurico (12:0); β-sitosterol (1); 24-metilenocicloartenol (2); estigmasterol (3).

4.3.5. Atividade antioxidante dos extratos

A tabela 4.8 apresenta a atividade antioxidante dos extratos obtidos nas diferentes condições de ESC-CO₂ assistida por US, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH. O potencial antioxidante variou de 69,26% ± 0,31, na condição de 320 W/40 min, a 72,42% ± 0,42 na condição 160 W/40 min, não sendo considerada uma variação significativa.

O extrato obtido na extração sem aplicação de US, porém na mesma condição de pressão e temperatura (250 bar e 40 °C), resultou em 71,67% de atividade antioxidante, não destoando dos resultados obtidos nas ESC assistidas por US. Portanto, pode-se dizer que a utilização do US acoplado à ESC não interferiu no potencial antioxidante dos extratos, apenas no rendimento de extração e na cinética do processo.

Tabela 4.8 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO₂ + US expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

Experimento	Condição de extração (W/min)	Atividade antioxidante (%)
1	160/40	72,42 ± 0,42
2	160/120	69,40 ± 1,21
3	320/40	69,26 ± 0,31
4	320/120	70,01 ± 1,22
5	240/80	72,42 ± 0,36
6	Sem US	71,67 ± 2,45

A figura 4.9 apresenta a comparação entre o potencial antioxidante e o rendimento global obtido nas diferentes condições experimentais. Observa-se que a condição 1, na qual foi obtido maior rendimento global de extrato, resultou em maior potencial antioxidante contra o radical DPPH. Este resultado mostra que a ESC assistida por US, a 160 W de potência por 40 min, é a condição mais eficiente para obter extrato de farelo de arroz com elevado potencial antioxidante.

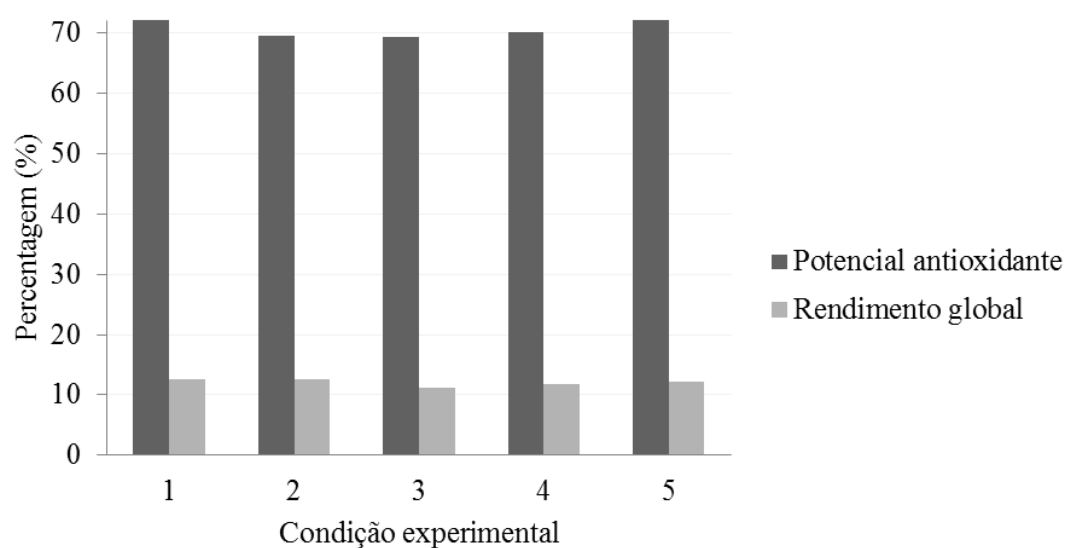


Figura 4.9 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC-CO₂ + US

4.3.6. Microscopia eletrônica de varredura

Para analisar o efeito do processo de extração sobre a estrutura física das partículas do farelo de arroz, foi realizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) do farelo *in natura* e após as extrações com e sem ultrassom, como mostra a figura 4.10. Para esta análise foi utilizado o farelo recuperado após a ESC assistida de US sob a condição 160W/40min.

Quando comparadas às partículas do farelo *in natura* (Figura 4.10a), as figuras 4.10b e 4.10c mostram que, tanto na ESC sem US quanto na ESC assistida por US, houve um aumento na deposição de partículas na superfície, sendo esta mais pronunciada na ESC + US. Isto se deve ao fluxo do fluido supercrítico e, também, as ondas ultrassônicas, que danificam as paredes das células, levando ao deslocamento de micropartículas a partir da parte interna da matriz vegetal até a sua superfície (SANTOS et al, 2015), o que facilita a remoção dos extratos da parte interna do farelo. Santos et al (2015) obtiveram resultados semelhantes. Balachandran et al (2006) e Santos et al (2015) demonstraram, a partir da MEV das partículas de gengibre e de pimenta malagueta, respectivamente, que as vibrações ultrassônicas realmente danificam as paredes das células, facilitando a remoção dos extratos.

As análises das imagens obtidas na MEV permitem concluir que os aumentos nos rendimentos de RBO e na taxa de extração podem ser explicados pelos efeitos físicos evidenciados sobre a superfície das partículas. De acordo com Balachandran et al (2006), estes efeitos são possivelmente provocados pelas vibrações ultrassônicas sobre a superfície das partículas, ou simplesmente pelas rápidas mudanças na densidade do fluido induzidas pela pressão das ondas ultrassônicas. No entanto, os autores ainda consideram a possibilidade de cavitação como um dos mecanismos para a melhoria do processo.

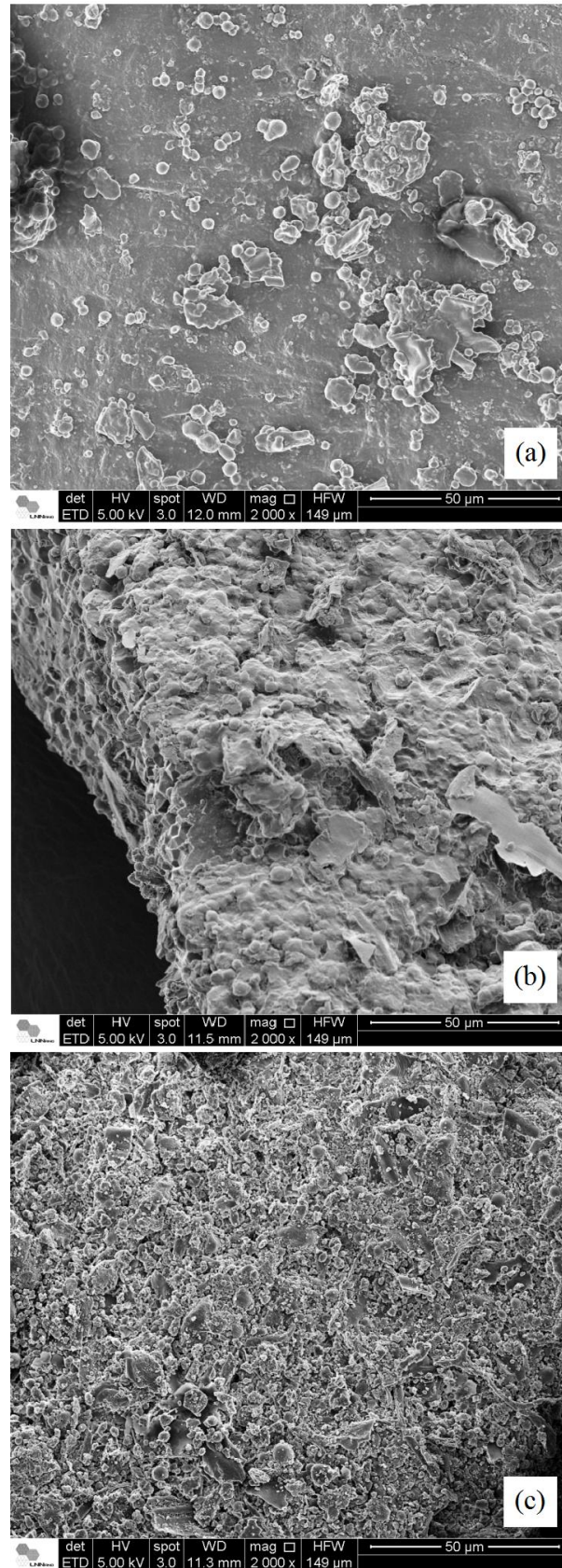


Figura 4.10 – Imagens da MEV das partículas de farelo de arroz *in natura* (a), após a ESC (b) e após a ESC assistida por US (c)

4.4. Extração com GLP comprimido

4.4.1. Rendimento global e recuperação de RBO

O rendimento global dos extratos obtidos no processo de extração com GLP comprimido, nas diferentes condições de pressão e temperatura, está ilustrado na tabela 4.9. O maior rendimento e recuperação de RBO (12,07%; 78,17%) foi obtido na condição de maior pressão e temperatura (25 bar/40 °C), enquanto que o menor rendimento e recuperação (9,99%; 64,70%) foi obtido na menor pressão e menor temperatura (5 bar/20 °C). O experimento 2 não apresentou rendimento de extrato devido ao GLP estar no estado gasoso nesta condição.

Tabela 4.9 – Rendimento de RBO nas extrações com GLP comprimido conduzidas por 5 minutos e com vazão de 4 g_{GLP}.min⁻¹

Experimento	Condição de extração (bar/°C)	Rendimento global (% , m.m⁻¹)	Recuperação de óleo (% , m.m⁻¹)
1	5/20	9,99	64,70
2	5/40	-	-
3	25/20	11,45	74,16
4	25/40	12,07	78,17
5	15/30	12,06	78,11

4.4.2. Efeito da temperatura e da pressão

A figura 4.12 mostra a influência da pressão e da temperatura no rendimento dos extratos de farelo de arroz obtidos nas extrações com GLP comprimido. De um modo geral, pode-se observar que as variáveis não apresentaram influência considerável nas curvas de extração. Observa-se na figura 4.12 que com a maior pressão foi obtido um maior rendimento

ao final da extração, embora com a pressão menor o rendimento tenha sido maior nos primeiros minutos de extração. Além disso, a figura mostra que na temperatura de 40 °C foi obtido um rendimento ligeiramente superior ao longo da extração do que a 20 °C.

A análise estatística dos resultados, apresentada na forma de gráfico Pareto (Figura 4.11), o qual determina os efeitos das variáveis, pressão e temperatura, nos rendimentos de extração de RBO a partir das extrações com GLP comprimido, mostra que as variáveis e a interação entre as mesmas não foram estatisticamente significativas, embora o aumento da temperatura e da pressão tenha mostrado uma tendência em melhorar o rendimento global das extrações.

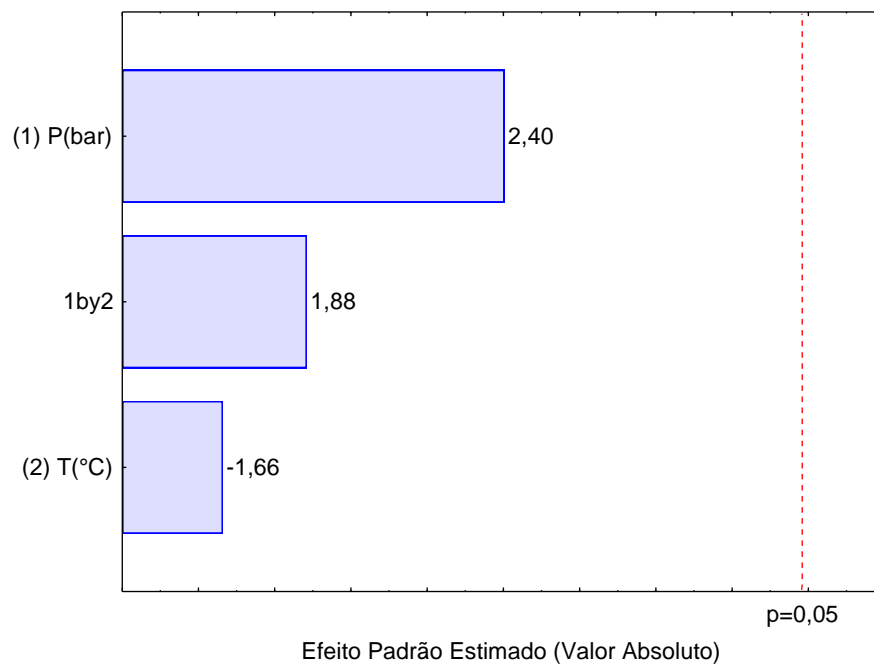


Figura 4.11 – Efeitos para as variáveis, pressão (P) e temperatura (T), estudadas nas extrações com GLP comprimido de RBO

4.4.3. Cinética de extração

As curvas cinéticas do processo de extração com GLP comprimido foram geradas pelo rendimento de massa de extrato acumulada em função do tempo de extração, como mostra a figura 4.12. Os dados das curvas cinéticas podem ser vistos no Apêndice C. Observa-se, na

figura 4.12, que no primeiro minuto a condição 5 bar/20 °C apresentou rendimento superior que as demais, porém, no final dos 5 minutos foi a que apresentou menor rendimento global (9,99%). As demais condições (25 bar/40 °C, 15 bar/30 °C e 25 bar/20 °C) mostraram comportamento cinético semelhante. Portanto, tendo em vista o consumo energético, pode-se considerar ótima a condição 15 bar/30 °C, visto que esta condição foi suficiente para obter um bom rendimento de RBO.

Jesus et al (2013) compararam a extração de óleo de palma utilizando propano subcrítico e etanol, onde foram alcançados rendimentos de 69,5 a 73,9% a partir do propano ($T = 20-60\text{ °C}$; $P = 100-200\text{ bar}$) e de 64,6 a 70,6% utilizando etanol ($T = 20-60\text{ °C}$; $P = 100\text{ bar}$). Enquanto que Nimet et al (2011) avaliaram a extração de óleo de girassol a partir da ESC ($T = 40-60\text{ °C}$; $P = 190-250\text{ bar}$) e do propano subcrítico ($T = 30-60\text{ °C}$; $P = 80-120\text{ bar}$), onde obtiveram rendimentos de 31,7 a 100% e de 87,8 a 100%, respectivamente. Os resultados desses trabalhos mostram que o propano, um dos principais compostos do GLP, foi o solvente que apresentou melhores resultados de rendimento de extratos quando comparado ao etanol e ao CO_2 supercrítico.

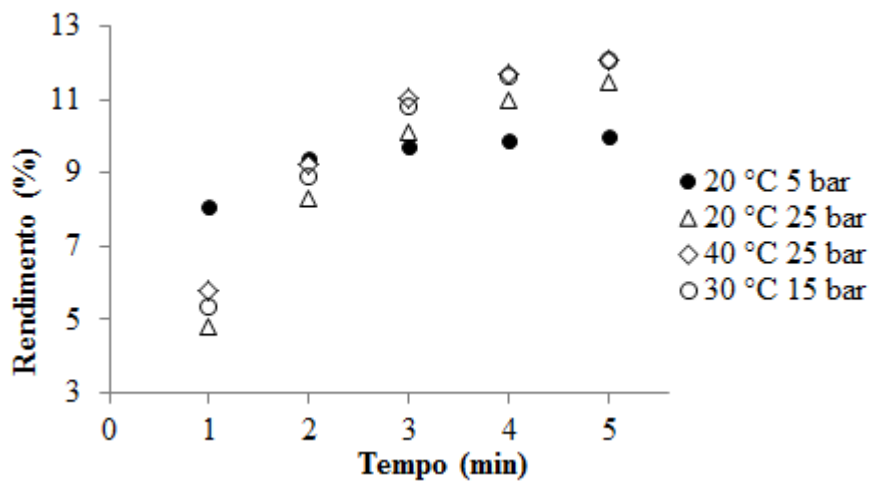


Figura 4.12 – Curvas cinéticas de extração com GLP comprimido de RBO em diferentes condições de temperatura e pressão

4.4.4. Caracterização química dos extratos

A tabela 4.10 apresenta os compostos químicos, identificados por CG-EM, dos extratos obtidos no processo de extração com GLP comprimido, e seus respectivos tempos de retenção. Os cromatogramas indicaram a presença de ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2), ácido palmítico (16:0), ácido láurico (12:0) e β -sitosterol (1). O β -sitosterol, um dos esteróis que compõem o γ -orizanol, com elevado potencial antioxidante, foi identificado apenas na condição 5 (15 bar/30 °C), a qual obteve um ótimo rendimento global de RBO.

Illes et al (1999) alcançaram o maior rendimento de óleo com o maior teor de carotenoides, utilizando propano subcrítico, em 30-50 bar, sendo que o aumento da pressão até 80 bar diminuiu visivelmente o teor de carotenoide do extrato. O teor de carotenoides nos extratos obtidos por propano subcrítico foi claramente maior que nos extratos obtidos por CO₂ supercrítico. No entanto, Nimet et al (2011) e Mesomo et al (2012) não observaram uma variação significativa nos compostos de interesse obtidos por propano subcrítico e por ESC-CO₂ de seus respectivos extratos.

Tabela 4.10 – Caracterização química a partir de CG-EM dos extratos obtidos com GLP comprimido

Condição experimental	Tempos de retenção dos compostos identificados				
	16:0	18:2	18:1	12:0	1
5bar/20°C	13,972	15,114	15,140	14,843	
25bar/20°C	13,979	15,121	15,146	14,837	
25bar/40°C	13,985	15,127	15,152	16,925	
15bar/30°C	13,973	15,114	15,140	16,875	21,291

Ácido palmítico (16:0); ácido linoleico (18:2); ácido oleico (18:1); ácido láurico (12:0); β -sitosterol (1).

4.4.5. Atividade antioxidante dos extratos

A tabela 4.11 apresenta a atividade antioxidante dos extratos obtidos nas diferentes condições de extração com GLP comprimido, expressa em porcentagem de sequestro do radical DPPH. Não foi possível realizar a análise do extrato obtido no experimento 2, uma vez que nestas condições o GLP encontra-se na forma de gás. A capacidade antioxidante dos extratos variou de $63,55\% \pm 3,12$, na condição 25 bar/20 °C, até $67,49\% \pm 1,93$ a 25 bar/40 °C, não apresentando diferença significativas.

Tabela 4.11 – Atividade antioxidante dos extratos obtidos com GLP comprimido expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

Experimento	Condição de extração (bar/°C)	Atividade antioxidante (%)
1	5/20	$65,29 \pm 0,75$
2	5/40	-
3	25/20	$63,55 \pm 3,12$
4	25/40	$67,49 \pm 1,93$
5	15/30	$65,15 \pm 2,70$

A figura 4.13 apresenta a comparação entre a atividade antioxidante e o rendimento global obtido nas diferentes condições experimentais. A condição experimental 4 (25 bar/40 °C) apresentou maior potencial antioxidante e maior rendimento global. No entanto, o experimento 5 (15 bar/30 °C) apresentou um bom potencial antioxidante, próximo ao obtido na condição 4, e como mencionado nos itens anteriores, nesta condição foi identificada a presença de β -sitosterol e um bom rendimento global de RBO, além de ser considerada uma condição ótima do ponto de vista energético.

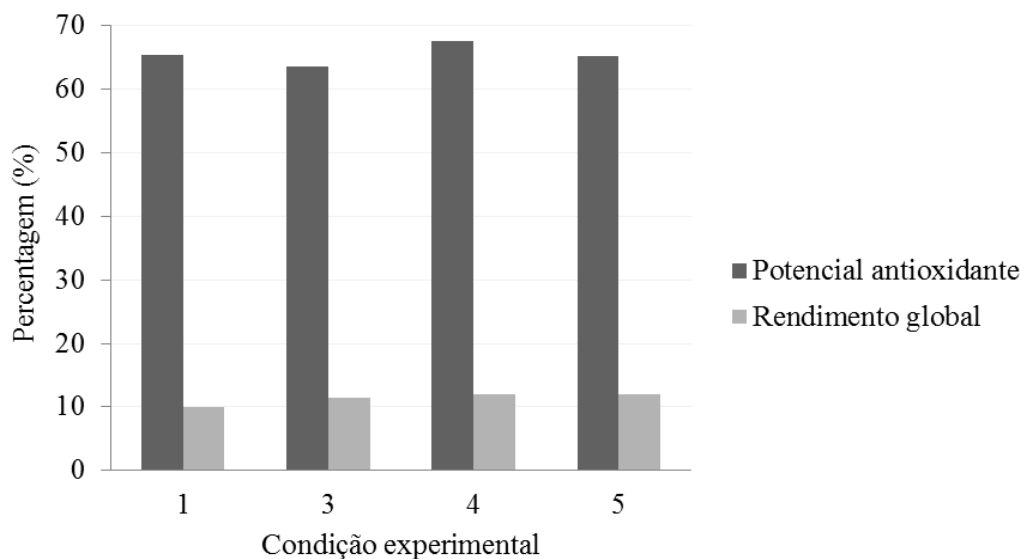


Figura 4.13 – Comparação entre o rendimento global e a atividade antioxidante dos extratos obtidos com GLP comprimido

4.5. Comparativo entre CO₂ supercrítico e GLP comprimido como solvente

Neste trabalho foi utilizado CO₂ supercrítico e GLP comprimido para a obtenção de óleo de farelo de arroz. A tabela 4.12 apresenta uma comparação dos resultados das extrações utilizando estes solventes. Observa-se alguns resultados semelhantes, como o rendimento máximo de RBO, o potencial antioxidante dos extratos e os compostos de interesse identificados.

No entanto, a condição de extração de maior rendimento de RBO utilizando GLP comprimido (12,07% a 25 bar e 40 °C) utilizou uma razão S/F de aproximadamente 42 vezes menor quando comparada com a de maior rendimento na ESC (12,68% a 250 bar e 40 °C), ou seja, o consumo de solvente foi 42 vezes menor utilizando GLP do que CO₂, mostrando a elevada solubilidade do óleo no GLP.

Além disso, enquanto o tempo de extração gasto utilizando CO₂ supercrítico foi de 105 min, a extração com GLP comprimido levou 5 min, reduzindo em 21 vezes o tempo de extração, sendo utilizada a mesma vazão de solvente em ambos processos. Outra vantagem foi a redução das condições de pressão, de 250 bar com CO₂ para 25 bar com GLP.

Tabela 4.12 – Comparativo entre a utilização de CO₂ supercrítico e GLP comprimido como solvente

	CO₂ supercrítico	GLP comprimido
Rendimento máximo de extrato (%)	12,68	12,07
Tempo de extração (min)	105*	5*
Vazão de solvente (g _{solvente} .min ⁻¹)	4	4
Massa de solvente (g)	420*	20**
S/F (m _{solvente} /m _{farelo})	42*	1**
P (bar)	250*	25**
Potencial antioxidante máximo (%)	71,67	67,49
Compostos antioxidantes identificados	β-sitosterol	β-sitosterol

*Dados da condição experimental de maior rendimento 250 bar/40 °C.

**Dados da condição experimental de maior rendimento 25 bar/40 °C.

De um modo geral, a utilização do GLP comprimido apresentou maiores vantagens do que o CO₂. Por outro lado, enquanto o CO₂ é considerado seguro (GRAS), o GLP apresenta elevada inflamabilidade, sendo necessário um controle e cuidado maior do processo.

5. CONCLUSÕES

De acordo com a extração realizada por Soxhlet o farelo de arroz utilizado apresentou um teor de óleo de, aproximadamente, 15,44%. As extrações com CO₂ supercrítico, com CO₂ supercrítico assistido por ultrassom e com GLP comprimido alcançaram uma recuperação máxima de 82,12, 81,93 e 78,17%, mostrando a eficiência dos processos estudados, uma vez que a extração por Soxhlet (utilizando n-hexano) tem a capacidade de extrair compostos de elevada massa molecular e sem interesse biológico, como ceras, fosfolipídios, pigmentos e metais traço (ferro e cobre). Conforme os cromatogramas dos extratos obtidos nos três processos estudados, nenhum destes compostos foi encontrado.

Nas extrações utilizando CO₂ supercrítico a densidade do solvente influenciou na solubilidade do RBO, visto que o rendimento de extrato aumentou significativamente em pressões mais elevadas sob condições isotérmicas e em temperaturas mais baixas sob condições isobáricas, alcançando um rendimento máximo de 12,68% sob a condição de 250 bar e 40 °C por 4 horas de extração. No entanto a condição de maior rendimento não significou maior seletividade, pois foi sob a condição 200 bar e 60 °C que foi alcançada a maior porcentagem de atividade antioxidante ($71,67 \pm 2,45$) e identificada a presença do composto bioativo β -sitosterol por CG-EM.

A ESC assistida por US obteve um rendimento máximo de 12,65% na condição de 160 W por 40 min, o qual foi aproximadamente 27% superior que a extração sem aplicação de US, para um mesmo tempo de extração (2 horas). Nesta mesma condição observou-se, também, que o tempo de extração foi reduzido em aproximadamente 58% para obter o rendimento máximo alcançado na ESC sem US. As variáveis potência e tempo de aplicação do US não influenciaram significativamente no rendimento global de extrato. A aplicação de uma pressão mais baixa por um menor tempo foi suficiente para acelerar a transferência de massa na extração, o que também beneficia o processo do ponto de vista energético. Na mesma condição onde foi alcançado maior rendimento também foi obtido maior potencial antioxidante ($72,42 \pm 0,42$) e identificada a presença dos compostos bioativos campesterol, β -sitosterol e 24-metilenocicloartenol nas análises de CG-EM.

As extrações utilizando GLP comprimido apresentaram rendimento de até 12,07% sob a condição de 25 bar e 40 °C. No entanto a condição 15 bar e 30 °C apresentou um rendimento semelhante (12,06%), sendo esta considerada a melhor condição, uma vez que

beneficia o processo do ponto de vista energético. Além disso, o tempo de extração e o consumo de solvente no processo utilizando GLP comprimido diminuiram drasticamente quando comparado ao CO₂ supercrítico, de 105 a 5 min e de, aproximadamente, 42 mL_{CO₂}.g⁻¹_{farelo} para 1 mL_{GLP}.g⁻¹_{farelo}. Nesta condição foi alcançado um potencial antioxidante de 65,15% e identificado o composto bioativo β-sitosterol.

Dentre os processos estudados, pode-se concluir que a extração supercrítica assistida por ultrassom foi a que apresentou melhores resultados, uma vez que neste processo a transferência de massa foi acelerada, obtendo-se ótimos rendimentos de RBO. Além disso, os extratos apresentaram elevado potencial antioxidante e compostos bioativos de interesse, como o campesterol, 24-metilenocicloartenol e o β-sitosterol. Embora as extrações com GLP comprimido tenham apresentado ótimos rendimentos em um curto tempo de extração (5 minutos), os extratos obtidos mostraram menor potencial antioxidante e não apresentaram os três compostos bioativos identificados nos extratos das ESC + US, indicando que o GLP tem uma maior facilidade em solubilizar o óleo do que os compostos bioativos.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

❖ Estudar potências menores de US no processo de ESC e, tendo em vista que o tempo de aplicação de US não influenciou significativamente no processo (dentro da faixa estudada), sugere-se que seja analisado o efeito do tratamento da amostra com US antes da ESC.

❖ Quanto à extração com GLP comprimido, sugere-se estudar um sistema de recolhimento e reaproveitamento (recirculação) do solvente. Além disso, a composição dos extratos deve ser melhor estudada, uma vez que os extratos obtidos nesse trabalho apresentaram potencial antioxidante e, no entanto, só foi identificado um composto de potencial antioxidante em apenas uma condição de extração.

❖ Estudar a extração de RBO utilizando uma mistura de CO₂ com GLP, de modo a obter uma região de operação segura, uma vez que o GLP apresenta elevada inflamabilidade.

❖ Realizar a modelagem matemática dos resultados obtidos nos diferentes processos de extração de RBO.

❖ Realizar caracterização qualitativa dos extratos obtidos nos diferentes processos.

REFERÊNCIAS

- AKALIN, M. K.; KARAGÖZ, S.; AKYÜZ, M. Supercritical ethanol extraction of bio-oils from German beech wood: Design of experiments. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 720–729, 2013.
- AMARASINGHE, B. M. W. P. K.; GANGODAVILAGE, N. C. Rice bran oil extraction in Sri Lanka. **Food and Bioproducts Processing**, v. 82, p. 54–59, 2004.
- ANAL, A. K. Food processing by-products. In: TIWARI, B. K.; BRUNTON, N. P.; BRENNAN, C. S. **Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction**. First ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2013. p. 180–197.
- ARAB, F.; ALEMZADEH, I.; MAGHSOUDI, V. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. **Scientia Iranica**, v. 18, n. 6, p. 1402–1406, 2011.
- BAJEROVÁ, P.; ADAM, M.; BAJER, T.; VENTURA, K. Comparison of various techniques for the extraction and determination of antioxidants in plants. **Journal of Separation Science**, v. 37, p. 835–844, 2014.
- BALACHANDRAN, S.; KENTISH, S. E.; MAWSON, R.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, p. 471–479, 2006.
- BALACHANDRAN, C.; MAYAMOL, S. T.; THOMAS, S.; SUKUMAR, D.; SUNDARESAN, A.; ARUMUGHAN, C. An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2905–2912, 2008.
- BAO, JINSONG. Nutraceutical Properties and Health Benefits of rice. In: YU, L.; TSAO, R.; SHAHIDI, F. **Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits**. First ed. John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 37–64.
- BOONKIRD, S.; PHISALAPHONG, C.; PHISALAPHONG, M. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 1075–1079, 2008.

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

CARRERA, C.; RUIZ-RODRÍGUEZ, A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100–104, 2012.

CHEN, C. R.; WANG, C. H.; WANG, L. Y.; HONG, Z. H.; CHEN, S. H.; HO, W. J.; CHANG, C. M. J. Supercritical carbon dioxide extraction and deacidification of rice bran oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 45, p. 322–331, 2008.

CHEN, C.; YANG, Y.; SHEN, C.; LAI, S.; CHANG, C. J.; SHIEH, C. Recovery of vitamins B from supercritical carbon dioxide-defatted rice bran powder using ultrasound water extraction. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 124–128, 2011.

CORSO, M. P.; FAGUNDES-KLENA, M. R.; SILVA, E. A.; FILHO, L. C.; SANTOS, J. N.; FREITAS, L. S.; DARIVA, C. Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 52, p. 56–61, 2010.

DANIELSKI, L.; ZETZL, C.; HENSE, H.; BRUNNER, G. A process line for the production of raffinated rice oil from rice bran. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, p. 133–141, 2005.

DAVARNEJAD, R.; KASSIM, K. M.; ZAINAL, A.; SATA, S. A. J. Supercritical fluid extraction of β -carotene from crude palm oil using CO₂. **Journal of Food Engineering**, v. 89, p. 472–478, 2008.

DEO, M. D.; HWANG, J.; HANSON, F. V. Supercritical fluid extraction of a crude oil, bitumen-derived liquid and bitumen by carbon dioxide and propane. **Fuel**, v. 71, p. 1519-1526, 1992.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.2, p. 446-452, 2006.

EISENMENGER, M.; DUNFORD, N. T. Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 55–61, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Agência Embrapa de Informação Tecnológica (Ageitec). Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcx1g7v3u.html>. Acesso em: 12 nov. 2013.

FREITAS, L. DOS S.; OLIVEIRA, J. V. DE; DARIVA, C.; JACQUES, R. A.; CARAMÃO, E. B. Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2558–2564, 2008.

FUJINO, Y. Rice Lipids. **Cereal Chemistry**, v. 55, p. 559-571, 1978.

GAO, Y.; NAGY, B.; LIU, X.; SIMÁNDI, B.; WANG, Q. Supercritical CO₂ extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, p. 345–350, 2009.

GHATAK, S. B.; PANCHAL, S. S. Anti-diabetic activity of oryzanol and its relationship with the anti-oxidant property. **International Journal of Diabetes in Developing Countries**, v. 32, n. 4, p. 185–192, 2012.

GIL-CHÁVEZ, G. J.; VILLA, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; HEREDIA, J. B.; SEPULVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 5-23, 2013.

GOFFMAN, F. D.; PINSON, S.; BERGMAN, C. Genetic Diversity for Lipid Content and Fatty Acid Profile in Rice Bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 5, p. 485-490, 2003.

GOUFO, P. & TRINDADE, H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. **Food Science & Nutrition**, v. 2, p. 75–104, 2014.

GUNAWAN, S.; VALI, S. R.; JU, Y. Purification and Identification of Rice Bran Oil Fatty Acid Steryl and Wax Esters. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 5, p. 449-456, 2006.

HAMDAN, S.; DAOOD, H. G.; TOTH-MARKUS, M.; ILLÉS, V. Extraction of cardamom oil by supercritical carbon dioxide and sub-critical propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 44, p. 25–30, 2008.

HERRERO, M.; MENDIOLA, J. A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑES, E. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2495–2511, 2010.

HSUEH, K. -A.; CHANG, F. -C.; WANG, H. P.; WANG, H. -C.; HUANG, Y. -J.; HUANG, H. -L.; TUAN, Y. -J. Enhanced extraction of PAHs hindered in fly ashes with supercritical water. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 73, p.116–119, 2013.

HU, A.; ZHAO, S.; LIANG, H.; QIU, T.; CHEN, G. Ultrasound assisted supercritical fluid extraction of oil and coixenolide from adlay seed. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, p. 219–224, 2007.

ILLÉS, V.; DAOOD, H. G.; BIACS, P. A.; GNAYFEED, M. H.; MÉSZÁROS, B. Supercritical CO₂ and subcritical propane extraction of spice red pepper oil with special regard to carotenoid and tocopherol content. **Journal of Chromatographic Science**, v. 37, p. 345-352, 1999.

IMSANGUAN, P; ROAYSUBTAWEE, A; BORIRAK, R.; PONGAMPHAI, S.; DOUGLAS, S.; DOUGLAS, P.L. Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1417–1424, 2008.

INSTITUTO RIO GRANDENSE DE ARROZ – IRGA. Disponível em:
<http://www.irga.rs.gov.br/upload/20131018151801produtividade_municipios_safra_12_13_final.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2013.

ISMAIL, M.; AL-NAQEEB, G.; MAMAT, W. A. A.; AHMAD, Z. Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, n. 23, p. 1-13, 2010.

JESUS, A. A.; ALMEIDA, L. C.; SILVA, E. A.; FILHO, L. C.; EGUES, S. M. S.; FRANCESCHI, E.; FORTUNY, M.; SANTOS, A. F.; ARAUJO, J.; SOUSA, E. M. B. D.; DARIVA, C. Extraction of palm oil using propane, ethanol and its mixtures as compressed solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 81. P. 245– 253, 2013.

JESUS, S. P.; GRIMALDI, R.; HENSE, H. Recovery of γ -oryzanol from rice bran oil byproduct using supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, p. 149–155, 2010.

JUN, H.; SONG, G.; YANG, E.; YOUN, Y.; KIM, Y. Antioxidant activities and phenolic compounds of pigmented rice bran extracts. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, p. C759-C764, 2012.

KIM, H. J.; LEE, S. B.; PARK, K. A.; HONG, I. K. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process. **Separation and Purification Technology**, v. 15, p. 1-8, 1999.

KRAUJALIS, P.; VENSKUTONIS, P. R. Supercritical carbon dioxide extraction of squalene and tocopherols from amaranth and assessment of extracts antioxidant activity. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 80, p. 78–85, 2013.

LAOKULDILOK, T.; SHOEMAKER, C. F.; JONGKAEWWATTANA, S.; TULYATHAN, V. Antioxidants and Antioxidant Activity of Several Pigmented Rice Brans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 193–199, 2011.

MANTELL, C. et al. Supercritical fluid extraction. In: RAMASWAMY, S.; HUANG, H.-J.; RAMARAO, B. V. **Separation and Purification Technologies in Biorefineries**. First ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2013. p. 79–100.

MASON, T. J.; PANIWNKYK, L.; LORIMER, J.P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, p. S253-S260, 1996.

McCLEMENTS, J. D. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing, **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, p. 293-299, 1995.

MESOMO, M. C.; SCHEER, A.P.; PEREZ, E.; NDIAYE, P. M.; CORAZZA, M. L. Ginger (*Zingiber officinale* R.) extracts obtained using supercritical CO₂ and compressed propane: Kinetics and antioxidant activity evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 71, p. 102–109, 2012.

MONOSROI, A.; RUKSIRIWANICH, W.; ABE, M.; SAKAI, H.; MONOSROI, W.; MONOSROI, J. Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, 137–144, 2010.

MUJAHID, A.; HAQ, I.; ASIF, M.; GILANI, A. H. Effect of various processing techniques and different levels of antioxidant on stability of rice bran during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 847–852, 2005.

NIMET, G.; SILVA, E. A. DA; PALÚ, F.; DARIVA, C.; FREITAS, L. DOS S.; NETO, A. M.; FILHO, L. C. Extraction of sunflower (*Heliantus annuus* L.) oil with supercritical CO₂ and subcritical propane: Experimental and modeling. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 262–268, 2011.

PHAM, Q. T.; LUCIEN, F. P. Extraction process design. In: AHMED, J.; RAHMAN, M. S. **Food Process Design**. First ed. Blackwell Publishing Ltd., 2012. p. 871–918.

PATEL, M; NAIK, S. N. Gamma-oryzanol from rice bran oil – A review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 63, p. 569-578, 2004.

PAUCAR-MENACHO, L. M.; DA SILVA, L. H.; SANT'ANA, A. S.; GONÇALVES, L. A. G. Refino de óleo de farelo de arroz (*Oryza sativa* L.) em condições brandas para preservação do γ -orizanol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 45-53, 2007.

POULIOT, Y.; CONWAY, V.; LECLERC, P. Separation and Concentration Technologies in Food Processing. In: CLARK, S.; JUNG, S.; LAMSAL, B. **Food Processing: Principles and Applications**. Second ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2014. p. 33–60.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, p. 146–166, 2006.

RIBAS, M. C.; MANTOVANI, D.; AWADALLAK, J. A.; CANEVESI, R. L.; TAZINAFO, N. M.; FILHO, L. C.; PALÚ, F.; SILVA, E. A. Study of candeia oil extraction using pressurized fluids and purification by adsorption process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 177–182, 2014.

RIERA, E.; GOL, Y.; BLANCO, A.; GALLEGO, J.A.; BLASCO, M.; MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 241–244, 2004.

RIERA, E. et al. **Prototype for the use of ultrasound in supercritical media**. 19th International Congress on Acoustics. **Anais**. Madrid: 2007

RIERA, E.; BLANCO, A.; GARCÍA, J.; BENEDITO, J.; MULET, A.; GALLEGO-JUÁREZ, J. A.; BLASCO, M. High-power ultrasonic system for the enhancement of mass transfer in supercritical CO₂ extraction processes. **Physics Procedia**, v. 3, p. 141–146, 2010.

RIZVI, S. S. H.; BENADO, A. L.; ZOLLWEG, J. A.; DANIELS, J. A. Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods. **Food Technology**, v. 40, n. 6, p. 55-65, 1986.

ROMBAUT, N. et al. Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 8, n. 4, p. 530–544, 2012.

ROSEIRO, L. B.; DUARTE, L. C.; OLIVEIRA, D. L.; ROQUE, R.; BERNARDO-GIL, M. G.; MARTINS, A. I.; SEPÚLVEDA, C.; ALMEIDA, J.; MEIRELES, M.; GÍRIO, F. M.; RAUTER, A. P. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 132–138, 2013.

SALAZAR, J. et al. Process Design Involving Ultrasound. In: AHMED, J.; RAHMAN, M. S. **Handbook of Food Process Design**. First ed. Blackwell Publishing Ltd., 2012. p. 1107–1165.

SANTOS, P.; AGUIAR, A. C.; BARBERO, G. F.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 78–88, 2015.

SAYRE, R. N. **Rice Bran as a Source of Edible Oil and Higher Value Chemicals**. Proceedings of the 73rd American Association of Cereal Chemists Annual Meeting. San Diego: 1988.

SHIN, T.; GODBER, J. S.; MARTIN, D. E.; WELLS, J. H. Hydrolytic stability and changes in e vitamers and oryzanol of extruded rice bran during storage. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 4, p. 704-728, 1997.

SILVA, M. A. DA; SANCHES, C.; AMANTE, E. R. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 487–491, 2006.

SILVA, J. R. F.; CANTELLI, K. C.; TRES, M. V.; DALLA ROSA, C.; MEIRELLES, M. A. A.; SOARES, M. B. A.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V.; TREICHEL, H.; MAZUTTI, M. A. Treatment with compressed liquefied petroleum gas and ultrasound to improve cellulase activity. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 2, p. 102–107, 2013.

SUN, Y.; LIU, D.; CHEN, J.; YE, X.; YU, D. Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans-b-carotene from citrus peels. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 243–249, 2011.

TERIGAR, B. G.; BALASUBRAMANIAN, S.; SABLIOV, C. M.; LIMA, M.; BOLDOR, D. Soybean and rice bran oil extraction in a continuous microwave system: From laboratory- to pilot-scale. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 208–217, 2011.

TOMITA, K.; MACHMUDAH, S.; WAHYUDIONO, FUKUZATO, R.; KANDA, H.; QUITAIN, A. T.; SASAKI, M.; GOTO, M. Extraction of rice bran oil by supercritical carbon

dioxide and solubility consideration. **Separation and Purification Technology**, v. 125, p. 319–325, 2014.

URIBE, J. A. R.; PEREZ, J. I. N.; KAUIL, H. C.; RUBIO, G. R.; ALCO CER, C. G. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, p. 174–178, 2011.

XU, Z.; GODBER, J. S. Comparison of Supercritical Fluid and Solvent Extraction Methods in Extracting γ -Oryzanol from Rice Bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 5, p. 547-551, 2000.

YANG, C.; TEO, K. C.; XU, Y. R Butane extraction of model organic pollutants from water. **Journal of Hazardous Materials**, v. B108, p. 77–83, 2004.

WANG, C.; CHEN, C.; WU, J.; WANG, L.; CHANG, C. J.; HO, W. Designing supercritical carbon dioxide extraction of rice bran oil that contain oryzanols using response surface methodology. **Journal of Separation Science**, v. 31, p. 1399 – 1407, 2008.

WANG, X.; WU, Y.; CHEN, G.; YUE, W.; LIANG, Q.; WU, Q. Optimisation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from Sparganii rhizoma with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 846–854, 2013.

ZHANG, Z.; WANG, L.; LI, D.; JIAO, S.; CHEN, X. D.; MAO, Z. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v. 62, p. 192–198, 2008.

ZIGONEANU, I. G.; WILLIAMS, L.; XU, Z.; SABLIOV, C. M. Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4910–4918, 2008.

APÊNDICES

Anexo A – Dados das curvas de extração supercrítica com CO₂

150 bar/80 °C																
Tempo (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240
Massa extrato acum. (g)	0,0087	0,0138	0,0234	0,0311	0,0412	0,0481	0,0511	0,0550	0,0569	0,0591	0,0611	0,0640	0,0659	0,0675	0,0685	0,0700
Rendimento (%)	0,0870	0,1380	0,2340	0,3110	0,4120	0,4810	0,5110	0,5500	0,5690	0,5910	0,6110	0,6400	0,6590	0,6750	0,6850	0,7000
250 bar/40 °C																
Tempo (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240
Massa extrato acum. (g)	0,3428	0,6985	0,9852	1,1556	1,2355	1,2602	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680	1,2680
Rendimento (%)	3,4280	6,9850	9,8520	11,5560	12,3550	12,6020	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800	12,6800
250 bar/80 °C																
Tempo (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240
Massa extrato acum. (g)	0,2142	0,377	0,5333	0,6719	0,7878	0,8709	0,9617	1,0439	1,1074	1,1494	1,1794	1,1902	1,202	1,2101	1,2182	1,2241
Rendimento (%)	2,142	3,77	5,333	6,719	7,878	8,709	9,617	10,439	11,074	11,494	11,794	11,902	12,02	12,101	12,182	12,241
200 bar/60 °C																
Tempo (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240
Massa extrato acum. (g)	0,1116	0,2137	0,3111	0,4089	0,4887	0,5601	0,6266	0,6868	0,7383	0,7863	0,8316	0,8776	0,9128	0,9526	0,9858	1,0068
Rendimento (%)	1,1163	2,1373	3,1107	4,0890	4,8873	5,6007	6,2663	6,8680	7,3827	7,8627	8,3163	8,7763	9,1280	9,5257	9,8580	10,0680

Anexo B – Dados das curvas de extração supercrítica com CO₂ assistida por US

160 W/40 min												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,1796	0,5007	0,7973	1,0702	1,2777	1,4652	1,7882	1,9861	2,1209	2,3122	2,4256	2,5293
Rendimento (%)	0,8980	2,5033	3,9867	5,3510	6,3885	7,3262	8,9410	9,9307	10,6045	11,5608	12,1278	12,6463
160 W/120 min												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,2205	0,5095	0,8088	1,0826	1,3323	1,5358	1,8484	2,0607	2,2143	2,3756	2,4562	2,5162
Rendimento (%)	1,1023	2,5475	4,0438	5,4130	6,6613	7,6787	9,2420	10,3035	11,0713	11,8780	12,2808	12,5808
320 W/40 min												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,1538	0,4077	0,6695	0,9300	1,1107	1,2665	1,5120	1,6577	1,7599	1,9398	2,0907	2,2261
Rendimento (%)	0,7692	2,0387	3,3475	4,6502	5,5535	6,3325	7,5602	8,2887	8,7995	9,6990	10,4535	11,1307
320 W/ 120 min												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,2026	0,4832	0,7623	1,0001	1,2896	1,4419	1,6695	1,8426	1,9659	2,1347	2,2485	2,3434
Rendimento (%)	1,0130	2,4158	3,8115	5,0003	6,4478	7,2095	8,3473	9,2130	9,8295	10,6735	11,2425	11,7170
240 W/80 min												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,2170	0,5029	0,7608	0,9898	1,1830	1,3493	1,6521	1,8730	2,0336	2,2345	2,3250	2,4203
Rendimento (%)	1,0848	2,5143	3,8038	4,9488	5,9152	6,7467	8,2607	9,3650	10,1678	11,1723	11,6250	12,1013
Controle (Sem Ultrassom)												
Tempo (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60	80	100	120
Massa de extrato acum. (g)	0,1368	0,3184	0,4870	0,6343	0,7705	0,8820	1,0742	1,2294	1,3642	1,6704	1,8165	1,9884
Rendimento (%)	0,6838	1,5922	2,4350	3,1715	3,8525	4,4098	5,3708	6,1470	6,8212	8,3520	9,0827	9,9422

Anexo C – Dados das curvas de extração com GLP comprimido

5 bar/20 °C					
Tempo (min)	1	2	3	4	5
Massa de extrato acumulada (g)	1,6201	1,8814	1,9481	1,9759	1,9972
Rendimento (%)	8,1005	9,4070	9,7405	9,8795	9,9860
25 bar/20 °C					
Tempo (min)	1	2	3	4	5
Massa de extrato acumulada (g)	0,9625	1,6636	2,0231	2,1963	2,2902
Rendimento (%)	4,8125	8,3180	10,1155	10,9815	11,451
25 bar/40 °C					
Tempo (min)	1	2	3	4	5
Massa de extrato acumulada (g)	1,1602	1,8488	2,2055	2,3423	2,4144
Rendimento (%)	5,8010	9,2440	11,0275	11,7115	12,0720
15 bar/30 °C					
Tempo (min)	1	2	3	4	5
Massa de extrato acumulada (g)	1,0642	1,7780	2,1600	2,3321	2,4132
Rendimento (%)	5,3208	8,8898	10,7998	11,6605	12,0660