

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**ÓLEOS DE CHIA (*Salvia hispanica*) E PERILLA (*Perilla frutescens*):
EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS, CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS**

TESE DE DOUTORADO

Gabrielle Scapin

Santa Maria, RS
2017

Gabrielle Scapin

**ÓLEOS DE CHIA (*Salvia hispanica*) E PERILLA (*Perilla frutescens*): EXTRAÇÃO
COM FLUIDOS PRESSURIZADOS, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
COMPOSTOS BIOATIVOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Severo da Rosa

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Scapin, Gabrielle
ÓLEOS DE CHIA (*Salvia hispanica*) E PERILLA (*Perilla frutescens*): EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS / Gabrielle Scapin.- 2017.
100 p.; 30 cm

Orientadora: Claudia Severo da Rosa
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2017

1. Dióxido de carbono 2. Gás Liquefeito de petróleo 3. Ácidos graxos poli-insaturados 4. Fitoesteróis 5. Ácido ? linolênico I. Severo da Rosa, Claudia II. Título.

Gabrielle Scapin

**ÓLEOS DE CHIA (*Salvia hispanica*) E PERILLA (*Perilla frutescens*): EXTRAÇÃO
COM FLUIDOS PRESSURIZADOS, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
COMPOSTOS BIOATIVOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

Aprovada em 1 de dezembro de 2017:

Claudia Severo da Rosa, Dr^a. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Roger Wagner, Dr. (UFSM)

Marcio A. Mazutti, Dr. (UFSM)

Virgínia Cielo Rech, Dr^a. (UNIFRA)

Elisângela Colpo, Dr^a. (UNIFRA)

Santa Maria, RS
2017

*Dedico este trabalho a minha família...
Meus pais, Sandra e Gilberto, e minha irmã
Julia: Obrigada pelo incentivo, por terem me dado
forças para sempre seguir em frente; por
compartilharem comigo dos bons momentos,
comemorando comigo; e me ouvirem e me
apoiarem nos ruins, sempre com muito amor e
dedicação. Amo vocês!! Obrigada por tudo!*

*Ao meu companheiro, Fábio, que
acompanha essa caminhada à muitos anos, desde
a graduação em Química: Agradeço a
compreensão e paciência, auxílio nas minhas
dificuldades e pela troca de conhecimentos que
sempre fizemos ao longo desse período...*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora *Prof^a. Dr^a. Claudia Severo da Rosa*, que teve um papel importante na minha realização profissional, agradeço por acreditar no meu potencial desde antes de me tornar sua orientanda, e pela confiança depositada em mim e nas minhas idéias ao longo de todos estes anos de trabalho.

Ao *Prof. Dr. Marcio Mazutti* pela ajuda e acolhimento em seu laboratório para realização das extrações. Ao seu aluno de Doutorado *Ederson Abaide*, agradeço o empenho e dedicação que sempre teve em me ajudar a realizar meu trabalho. Aos demais alunos da Engenharia Química *Susane Druzian, Rafael Martins e Lucielle Nunes*, pela ajuda com os experimentos.

Ao *Prof. Dr. Roger Wagner* pela sua disponibilidade em me ajudar sempre que precisei e pela orientação com relação à cromatografia gasosa. A sua aluna de Doutorado *Raquel Vendruscolo*, agradeço enormemente pela sua dedicação e ajuda nas análises.

Aos professores componentes da *banca examinadora* deste trabalho: Virgínia Cielo Rech, Elisângela Colpo, Roger Wagner e Márcio Mazutti, agradeço por estarem presentes e pelas sugestões e contribuições para melhoria desta pesquisa.

Ao programa de *Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos* da Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de realização do Mestrado e Doutorado.

A *CAPES* pela concessão da bolsa de estudos.

A todos não citados que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

ÓLEOS DE CHIA (*Salvia hispanica*) E PERILLA (*Perilla frutescens*): EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS

AUTORA: GABRIELLE SCAPIN
ORIENTADORA: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

Este trabalho teve como objetivo a obtenção óleos de chia e perilla com dois diferentes solventes pressurizados (CO₂ e GLP) variando as condições de pressão e temperatura no processo de extração, a fim de avaliar o efeito destas variáveis no rendimento de óleo, atividade antioxidante, composição de ácidos graxos e de fitoesteróis. Para tal, foi realizado um planejamento experimental com 2 níveis e 2 variáveis (2²) com triplicata no ponto central, e as condições utilizadas foram de 10-25 MPa e 20-60 °C para CO₂ e 0,5-2,5 MPa e 20-40 °C para GLP. As condições de melhor rendimento (pontos ótimos) para os óleos de chia e perilla foram caracterizadas físico-quimicamente quanto ao índice de acidez, índice de iodo, índice de peróxidos e índice de refração. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH e o perfil de ácidos graxos e fitoesteróis por Cromatografia Gasosa. Por fim, ainda foi realizada uma comparação entre o óleo de chia e perilla nas condições 17,5 MPa/40 °C para CO₂ e 1,5 MPa/30 °C para GLP quanto ao teor de óleo, atividade antioxidante, ácidos graxos insaturados e fitoesteróis. Para o óleo de chia, os pontos ótimos de rendimento foram obtidos na condição 25 MPa/60 °C para CO₂ (21,93%) e 2,5 MPa/40 °C para GLP (27,13%). Nestas mesmas condições, o óleo extraído com GLP teve atividade antioxidante maior que o extraído com CO₂ (70,16 AA% e 20,15 AA%, respectivamente). O perfil de ácidos graxos foi semelhante entre as condições utilizadas e houve predominância do ácido graxo α -linolênico (valores máximos de 62,97% para CO₂ e 61,43% para GLP). Foram identificados esqualeno e β -sitosterol. Para o óleo de perilla os pontos de maior rendimento foram 25 MPa/20 °C na extração com CO₂ (31,80%) e 0,5 MPa/20 °C na extração com GLP (42,29%). Nestes pontos, o óleo extraído com GLP teve atividade antioxidante maior que o obtido com CO₂ (50,20 AA% e 46,44 AA% respectivamente). O perfil de ácidos graxos encontrado não apresentou diferença significativa entre as condições de extração apresentando uma predominância de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ácido graxo α -linolênico (valores máximos de 62,80% para CO₂ e 57,55% para GLP). O β -sitosterol foi o fitoesterol majoritário no óleo de perilla. A caracterização físico-química do óleo de chia e perilla mostrou que os mesmos estão dentro dos limites permitidos pela legislação. A semente de perilla apresentou um teor elevado de óleo em relação a chia. O óleo de perilla na concentração de 20 mg mL⁻¹ apresentou atividade antioxidante superior ao óleo de chia na concentração de 40 mg mL⁻¹ quando extraído com CO₂. No entanto, o óleo de chia mostrou uma concentração maior de C18:2 e C18:3 nos dois tipos de extrações e valores de esqualeno e β -sistosterol maiores nas extrações com CO₂.

Palavras-chave: Dióxido de carbono. Gás Liquefeito de Petróleo. Ácidos graxos poli-insaturados. Fitoesteróis. Ácido α -linolênico.

ABSTRACT

CHIA OILS (*Salvia hispanica*) AND PERILLA (*Perilla frutescens*): EXTRACTION WITH PRESSURIZED FLUIDS, CHEMICAL CHARACTERIZATION AND BIOACTIVE COMPOUNDS

AUTHOR: GABRIELLE SCAPIN
ADVISOR: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

The objective of this work was to obtain chia and perilla oils with two different pressurized solvents (CO₂ and LPG), varying the pressure and temperature conditions in the extraction process, in order to evaluate the effect of these variables on oil yield, antioxidant activity, composition of fatty acids and phytosterols. For this, an experimental design with 2 levels and 2 variables (2²) with triplicate was carried out at the central point, and the conditions used were 10-25 MPa and 20-60 °C for CO₂ and 0.5-2.5 MPa and 20-40 °C for GLP. The best performance conditions (optimum points) for the chia and perilla oils were physicochemically characterized for acidity index, iodine index, peroxide index and refractive index. The evaluation of the antioxidant activity was performed by the DPPH method and the profile of fatty acids and phytosterols by Gas Chromatography. Finally, a comparison between chia oil and perilla was performed at 17.5 MPa/40 °C for CO₂ and 1.5 MPa/30 °C for GLP for oil content, antioxidant activity, unsaturated fatty acids and phytosterols. For chia oil, optimum yield points were obtained at 25 MPa/60 °C for CO₂ (21.93%) and 2.5 MPa/40 °C for GLP (27.13%). Under these same conditions, the oil extracted with LPG had higher antioxidant activity than that extracted with CO₂ (70.16 AA% and 20.15 AA%, respectively). The fatty acid profile was similar between the conditions used and there was predominance of α -linolenic acid (maximum values of 62.97% for CO₂ and 61.43% for LPG). Squalene and β -sitosterol were identified. For the perilla oil the highest yield points were 25 MPa/20 °C in the extraction with CO₂ (31.80%) and 0.5 MPa/20 °C in the extraction with LPG (42.29%). In these points, the oil extracted with GLP had higher antioxidant activity than that obtained with CO₂ (50.20 AA% and 46.44 AA% respectively). The fatty acid profile found no significant difference between the extraction conditions used having a predominance of polyunsaturated fatty acids, particularly α -linolenic fatty acid (maximum values of 62.80% for CO₂ and 57.55% for LPG). β -sitosterol was the major phytosterol in perilla oil. The physical chemical characterization of chia and perilla oil showed that they are within the limits allowed by the legislation. The perilla seed had a high oil content in relation to chia. The oil of perilla in the concentration of 20 mg mL⁻¹ presented superior antioxidant activity to chia oil in the concentration of 40 mg mL⁻¹ when extracted with CO₂. However, chia oil showed a higher concentration of C18:2 and C18:3 in the two types of extractions and higher values of squalene and β -sitosterol in CO₂ extractions.

Keywords: Carbon dioxide. Liquefied petroleum gas. Polyunsaturated fatty acids. Phytosterols. α -linolenic acid.

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

Tabela 1: Planejamento experimental 2 ² com triplicata no ponto central.....	33
Tabela 2: Rendimento e recuperação do óleo de chia obtido por extração com CO ₂ e GLP pressurizados variando pressão e temperatura.....	38
Tabela 3: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) no rendimento da extração de óleo de chia com CO ₂ e GLP pressurizados.....	39
Tabela 4: Caracterização físico-química dos pontos ótimos do óleo de chia.....	41
Tabela 5: Atividade antioxidante (AA%) dos óleos de chia obtidos por CO ₂ e GLP pressurizados expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•.....	43
Tabela 6: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na atividade antioxidante do óleo de chia extraído com fluidos pressurizados.....	44
Tabela 7: Perfil de ácidos graxos (%) e fitoesteróis (mg 100g ⁻¹) do óleo de chia extraído com CO ₂ e GLP pressurizados.....	46
Tabela 8: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na variável esqualeno e β-sitosterol dos óleos extraídos com CO ₂ e GLP pressurizados.....	48

MANUSCRITO 2

Tabela 1: Planejamento experimental 2 ² com triplicata no ponto central.....	57
Tabela 2: Rendimento e recuperação de óleo de semente de perilla obtidos por extração com fluidos pressurizados, variando pressão e temperatura.....	61
Tabela 3: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) no rendimento da extração de óleo de perilla com fluidos pressurizados.....	62
Tabela 4: Caracterização físico-química dos pontos ótimos do óleo de perilla.....	64
Tabela 5: Atividade antioxidante dos óleos de perilla obtidos por fluidos pressurizados, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•.....	66
Tabela 6: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na atividade antioxidante do óleo de perilla extraído com fluidos pressurizados.....	67

Tabela 7: Perfil de ácidos graxos (%) e fitoesteróis (mg/100g) do óleo de perilla extraído com fluidos pressurizados.....	69
Tabela 8: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na variável esqualeno e β -sitosterol dos óleos de perilla extraídos com fluidos pressurizados.....	72

MANUSCRITO 3

Tabela 1: Teor de óleos (%) das sementes de chia e perilla extraídos por Soxhlet e fluidos pressurizados.....	83
Tabela 2: Atividade antioxidante de sementes de chia (40 mg mL ⁻¹) e perilla (20 mg mL ⁻¹) extraídos CO ₂ e GLP pressurizados, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•.....	85
Tabela 3: Composição de ácidos graxos (%) dos óleos de chia e perilla extraídos com CO ₂ e GLP comprimido.....	86
Tabela 4: Fitoesteróis (mg 100g ⁻¹) dos óleos de chia e perilla extraídos com CO ₂ e GLP comprimido.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sementes de chia.....	17
Figura 2: Sementes de perilla.....	20
Figura 3: Modelo experimental de extração.....	23

MANUSCRITO 1

Figura 1: Curva cinética da extração de óleo de chia com CO ₂ e GLP.....	40
---	----

MANUSCRITO 2

Figura 1: Curva cinética da extração de óleo de perilla com CO ₂ e GLP.....	63
--	----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A.....	100
ANEXO B.....	100

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 SEMENTES DE CHIA (<i>Salvia hispanica</i>)	17
2.2 SEMENTES DE PERILLA (<i>Perilla frutescens</i>)	19
2.4 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS	21
2.4.1 Prensagem.....	21
2.4.2 Extração com solventes orgânicos	21
2.4.3 Extração utilizando fluidos supercríticos e pressurizados	22
2.4.3.1 CO ₂	24
2.4.3.2 Fluidos pressurizados.....	24
2.5 ÁCIDOS GRAXOS E A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA (DAC)	25
3. OBJETIVOS	27
3.1 OBJETIVOS GERAIS	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. RESULTADOS	28
4.1 MANUSCRITO 1: EFEITO DA PRESSÃO E TEMPERATURA NA QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS	29
4.2 MANUSCRITO 2: QUALIDADE DO ÓLEO DE PERILLA (<i>Perilla frutescens</i>) EXTRAÍDO COM CO ₂ E GLP PRESSURIZADOS	53
4.3 MANUSCRITO 3: ÓLEOS DE CHIA E PERILLA OBTIDOS POR EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS: ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS E FITOESTERÓIS.....	78
5. CONCLUSÕES GERAIS	94
REFERÊNCIAS.....	95
ANEXOS	100

1. INTRODUÇÃO

Chia (*Salvia hispanica*) é uma semente nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala, possui 0,25-0,38 g de óleo/g de semente, onde os principais constituintes são triglicerídeos, nos quais os ácidos graxos poli-insaturados linolênico e linoléico estão presentes em quantidades elevadas (IXTAINA et al., 2011). Perilla (*Perilla frutescens*) é uma planta nativa dos países asiáticos, usada na culinária e na medicina, no entanto, permanece desconhecida nos países ocidentais. Suas sementes contêm de 0,35-0,45 g de óleo/g de semente e são fonte de ácido linolênico (KUROWSKA et al., 2003).

Os processos geralmente usados para extração de lipídios a partir de sementes oleaginosas tais como prensagem e extração com solventes orgânicos (frio ou quente) mostram uma série de desvantagens, incluindo procedimentos demorados, menor seletividade e contaminação e degradação de componentes bioativos principais (MANTELL et al, 2013). Desta forma, a extração utilizando fluidos supercríticos e pressurizados tem se tornado vantajosa devido ao uso de um solvente com alto poder solvatante, em função da sua alta difusibilidade, menor viscosidade e tensão superficial e utilização de condições mais suaves de temperatura, resultando em menor degradação dos componentes bioativos e em um produto final livre de resíduos de solventes tóxicos (GARCIA et al., 2012).

Diversos solventes já foram avaliados em processos de extração supercrítica de matrizes vegetais. No entanto, devido à reatividade, toxicidade, possibilidade de explosão, danos ao ambiente, alto custo ou condições supercríticas extremas muitos solventes não chegaram a ser adotados (SMITH et al., 1999).

O dióxido de carbono (CO₂) tem sido até os dias de hoje o solvente de escolha para emprego em processos de extração supercrítica de produtos naturais. Por possuir temperatura e pressão críticas moderadas (31,04 °C e 7,38 MPa, respectivamente) permite que a extração ocorra a temperaturas mais brandas, o que é um fator importante, visto que componentes naturais podem degradar a altas temperaturas. Além disso, o CO₂ é um gás inerte, não inflamável, não explosivo e possui baixo custo (CASSEL et al., 2008).

Outro processo que vem sendo desenvolvido é a extração de compostos bioativos utilizando solventes subcríticos ou pressurizados, como é o caso do propano e do n-butano. A extração com estes solventes tem mostrado maiores rendimentos, menor tempo de extração e conseqüentemente menor consumo de solvente (NOVELLO et al., 2015). No entanto, estes solventes tem custo 20 vezes maior que o CO₂. Sendo assim, há a possibilidade de utilização

do Gás Liquefeito de Petróleo (GLP), uma mistura de propano e butano, um solvente de baixo custo e altamente disponível e que ainda foi pouco estudado para fins de extração de óleos e compostos bioativos a partir de matrizes vegetais.

O ácido graxo α -linolênico, componente majoritário no óleo das sementes de chia e perilla, tem um papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares, por reduzir os níveis de LDL-colesterol no sangue, um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose e, conseqüentemente, das doenças arteriais coronarianas (GALLI; MARANGONI, 2006).

Dessa forma, há o interesse em estudar a extração destes óleos utilizando fluidos pressurizados como CO₂ e GLP, que são métodos que levam a uma maior preservação da qualidade do óleo em relação aos métodos de extração convencionais, a fim de obter um óleo com menor degradação e rico em compostos de interesse como ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis envolvidos na prevenção das doenças cardiovasculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica*)

Salvia hispanica ou chia é nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala, e sua cultura foi expandida até a América do Sul. Suas sementes foram amplamente utilizadas por civilizações Maias e Astecas, principalmente como alimento e para a fabricação de tintas. Chia é considerada uma cultura anual, de verão, pertencente à família Labiatae (COATES; AYERZA, 1996). Seus grãos são ovalados e tem aproximadamente 2 mm, com coloração preta ou marrom escura, com pontos brancos ou cinza (Figura 2).

Figura 1: Sementes de chia



No Brasil, a semente de chia é cultivada no Paraná, no município de Maringá, e no Rio Grande do Sul, no município de Entre Ijuís, locais que reúnem as condições climáticas e de adaptação necessários para o plantio da espécie.

Depois de alguns estudos, foram reveladas notáveis propriedades nutricionais desta pequena semente, por isso se recomenda seu consumo devido a seu alto conteúdo de óleo, proteína, antioxidantes, minerais e fibra alimentar (IXTAINA et al., 2011). Por ter um sabor extremamente sutil, a semente de chia pode ser incluída de diferentes formas na dieta, aumentando o valor nutricional dos alimentos, sem causar alteração no sabor. Chia pode ser adicionada sobre saladas, frutas, iogurtes, sucos ou polvilhada sobre carnes. Também pode ser utilizada para elaboração de pães, biscoitos, massas, entre outros alimentos.

A semente de chia contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como compostos fenólicos (miricetina, quercetina, kaempferol e ácido caféico), que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos (IXTAINA et al., 2011). Sabe-se que a oxidação das sementes de chia é mínima ou nula, devido a presença destes componentes antioxidantes, possuindo um grande potencial dentro da indústria de alimentos. A semente ainda possui tocoferóis e fitoesteróis (sitosterol, estigmasterol e campesterol) (MOREAU; WHITAKER; HICKS, 2002), envolvidos na prevenção de doenças cardiovasculares.

As sementes de chia também tem um elevado nível de proteínas (0,19 a 0,23 g/ g de semente), quando comparado a cereais tradicionais como o trigo, milho, aveia e cevada (COATES; AYERZA, 1996), embora a chia não seja comercialmente conhecida como uma fonte de proteína. Por outro lado, a chia é fonte de minerais tais como cálcio, fósforo, ferro e magnésio.

A extração do óleo de chia produz uma subfração com teor de fibra alimentar relativamente elevada (0,339 g/ g de semente) (CRAIG; SONS, 2004), dessa forma a adição de semente de chia na dieta pode melhorar a saciedade, regular o trânsito intestinal, diminuir o consumo de energia e promover perda de peso nos usuários (AYERZA et al., 2002).

No entanto, o principal interesse na semente de chia vem da qualidade do seu óleo. A semente contém entre 0,25 e 0,38 g de óleo/ g de semente, em que os principais constituintes são triglicerídeos, nos quais os ácidos graxos poli-insaturados α -linolênico e linoléico estão presentes em quantidades elevadas (IXTAINA et al., 2011), sendo estas quantidades significativamente maiores que nos óleos de soja, linhaça e canola (GUNSTONE; PADLEY, 1997). Segundo Scapin et al. (2017) o óleo de chia pode chegar a teores de 62,97% de ácido α -linolênico e 18,95% de linoléico. O ácido α -linolênico tem um papel muito importante na fisiologia, especialmente durante o crescimento fetal e infantil e na prevenção de doenças cardiovasculares, por reduzir os níveis de colesterol no sangue (GALLI; MARANGONI, 2006).

O óleo de chia contém umas das maiores concentrações conhecidas de ácido α -linolênico e em função disto, tornou-se uma importante opção para a nutrição pelos benéficos efeitos para a saúde humana, como a proteção contra eventos cardiovasculares (MOZZAFFARIAN, 2005). O óleo pode ser extraído por diferentes métodos como prensagem, solventes ou fluidos supercríticos e pressurizados. Segundo Ixtaina, Nolasco e Tomas (2012) diferenças nos métodos de extração causam variações no rendimento de óleo, no tipo de ácidos graxos extraídos, fibras dietéticas totais e também concentração de antioxidantes.

2.2 SEMENTES DE PERILLA (*Perilla frutescens*)

Perilla (*Perilla frutescens*) (Figura 3) pertencente à família Lamiaceae, é uma planta nativa para os países asiáticos e é usada na culinária e na medicina tradicional, no entanto, ainda permanece pouco conhecida para as populações ocidentais (KUROWSKA et al., 2003). No Brasil, as sementes de perilla têm cultivo concentrado na cidade paulista de Mogi das Cruzes, para atender ao consumo da expressiva colônia japonesa local e estabelecimentos da região. As sementes de perilla são bastante utilizadas na culinária japonesa, para finalização de pratos.

Suas sementes contém aproximadamente 0,35-0,45 g de óleo/ g de semente, e são uma boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados, especialmente ácido α -linolênico (C18:3 n-3). Segundo Scapin et al. (2017) aproximadamente 77% do óleo de perilla é composto por ácidos graxos poli-insaturados, com 48-61% de ácido graxo α -linolênico e 13-16% de linoléico

As folhas de perilla são utilizadas como uma fonte de antioxidantes (MENG et al., 2009). Além disso, perilla é conhecida por ser anti-bacteriana, anti-carcinogênica, anti-séptica, antipirética e anti-asmática, bem como por apresentar ação imunomoduladora (ZEKONIS et al., 2008).

Evidências de estudos com animais sugerem que óleo de semente de perilla tem capacidade de prevenir a aterosclerose e cancro induzido quimicamente, e que ele também melhora a função imune e mental (SADI et al., 1996).

O óleo de perilla ainda é composto por ácido palmítico (C16: 0), ácido esteárico (C18: 0), ácido oléico (C18: 1n-9) e ácido linoléico (C18: 2n-6) (LEE; RYU; KWAK, 2002). A ingestão de óleo de perilla contendo uma grande quantidade de ácido graxo α -linolênico oferece vários benefícios à saúde, como a redução da nível de lipídios no plasma (KIM; CHOI; CHOI, 2004). Seu consumo tem sido relatado para melhorar capacidade de aprendizagem e funcionamento da retina e suprimir a carcinogênese, metástase, trombose e alergias (KINSELLA, 1991). Os potenciais efeitos benéficos de redução dos níveis de colesterol no soro e de triglicerídeos na circulação, também foram exibidas num curto prazo em experimento com ratos Wistar (LONGVAH et al., 2000).

Perilla ainda contém diferentes polifenóis ou flavonas (ácido rosmarínico, luteolina, quercetina, catequina) (ZEKONIS et al., 2008) e um alto conteúdo de fitoesteróis e tocoferóis (KIM et al, 2012).

Figura 2: Sementes de Perilla



2.3 LIPÍDIOS

Óleos e gorduras são substâncias de origem vegetal, animal ou mesmo microbiana, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Seus principais componentes são os triacilgliceróis. Estruturalmente, um triacilglicerol é formado pela esterificação de uma molécula de glicerol com três moléculas de ácido graxo (AZEVEDO-MELEIRO; GONÇALVEZ, 2005).

Os lipídios são solúveis nos solventes orgânicos usuais, tais como clorofórmio, benzeno e hexano e são insolúveis na água. Os glicerídeos dos ácidos de peso molecular médio e elevado são praticamente inodoros e insípidos; os dos ácidos de peso molecular baixo apresentam caracteres organolépticos particulares (cor, cheiro, sabor, etc.). Devido aos seus altos pontos de ebulição e baixas tensões de vapor não é possível separá-los por destilação simples sem se decomporem, nem são destiláveis pelo vapor de água (como acontece com os óleos essenciais) (BRUNETON, 1995).

Os óleos e gorduras vegetais podem aparecer em diversas partes da planta, de modo especial nas sementes, onde se acumulam em maior quantidade. Para extrair os lipídios das oleaginosas vegetais usam-se, fundamentalmente, três processos, extração por pressão, processo industrial que utiliza prensas hidráulicas para extrair óleos das sementes, o esgotamento por solventes voláteis (extração por solventes), onde o hexano é o mais empregado em laboratório e extração utilizando fluidos supercríticos e pressurizados.

2.4 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS

2.4.1 Prensagem

A prensagem é o método mais popular para extrair o óleo das sementes oleaginosas (SINGH; BARGALE, 2000). O processo é realizado com o uso de prensas que apresentam uma série de vantagens perante o tradicional método de extração por solvente. A operação em uma prensa mecânica é simples, não exigindo mão-de-obra qualificada para seu manuseio. É um sistema facilmente adaptável a diversos tipos de oleaginosas, bastando para isso alguns simples ajustes mecânicos, e todo o processo de expulsão do óleo é contínuo e feito em um curto espaço de tempo. É um processo seguro feito sem uso de produtos químicos, podendo ser instalado em pequenas propriedades rurais, além de permitir o uso do subproduto da extração mecânica, a torta rica em proteína, como adubo e ração animal (SINGH; BARGALE, 2000). Porém, este processo tem a característica de deixar um residual de óleo na torta, implicando em perda de óleo (BOSS, 2000).

2.4.2 Extração com solventes orgânicos

A extração utilizando equipamento de Soxhlet é uma técnica padrão e é o principal método usado como referência para comparação com outros métodos. Na técnica de extração com solventes utilizando o Soxhlet a amostra é colocada em contato com certa quantidade de solvente várias vezes, facilitando a transferência do óleo da matriz para o solvente (WU et al., 2011). O material extraído permanece em contato com o solvente em ebulição durante todo o tempo, o que pode ocasionar reações químicas indesejáveis, como degradação dos seus constituintes. O processo de extração não é seletivo, de forma que a temperatura de extração e a natureza do solvente determinam o poder de dissolução (MELECCHI, 2005).

As principais desvantagens da extração utilizando o Soxhlet, em comparação com as outras técnicas convencionais é o longo tempo necessário para a extração e a grande quantidade de solvente utilizada. Como os lipídeos extraídos ficam em contato com o solvente na temperatura de ebulição deste, pode ocorrer a decomposição térmica de alguns componentes do óleo. Ainda, evaporação do solvente depois da extração é obrigatória, tornando o processo bastante trabalhoso (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

O hexano é o solvente orgânico mais utilizado no processo de extração, por ser o mais seletivo, possuir estreita faixa de ebulição e ser imiscível com a água (MORETTO; FETT,

1998). No entanto, sua inflamabilidade, custo e potencial poluidor justificam o estudo de alternativas ao seu uso.

2.4.3 Extração utilizando fluidos supercríticos e pressurizados

Nos últimos anos surgiu na indústria de alimentos uma maior preocupação sobre a qualidade e segurança dos produtos alimentares e o aumento da preferência por produtos naturais (AHANGARI; SARGOLZAEI, 2012). Assim, a extração com fluidos supercríticos e pressurizados ganhou maior atenção em relação às técnicas tradicionais, pela utilização de solventes não-tóxicos e voláteis e também pela obtenção de extratos sem contaminação por solventes, com menor degradação térmica e ambientalmente benéficos (HUANG et al., 2011).

A extração supercrítica é um processo de transferência de massa sob condições de pressão e temperatura acima do ponto crítico do solvente (MANTELL et al., 2013). Uma substância está no estado supercrítico quando sua temperatura e pressão são simultaneamente maiores do que os valores críticos. Um fluido supercrítico existe em uma única fase fluida, cujas características estão entre aquelas de gases e líquidos (BRUNNER, 2005). Quando uma das variáveis (pressão ou temperatura) estiver abaixo do ponto crítico, temos o fluido em estado subcrítico ou pressurizado.

O processo de extração consiste do contato entre o fluido e o líquido ou o sólido em condições pré-estabelecidas de temperatura e de pressão. Neste tipo de extração, o solvente é, normalmente, fornecido ao sistema através de cilindros de solvente liquefeito, principalmente para uso em unidades em escala de laboratório (Figura 1). A pressão de operação, se superior a do cilindro, pode ser obtida por uma bomba e a temperatura de operação por um trocador de calor. Os componentes presentes na matriz do soluto são solubilizados pelo solvente no extrator e a mistura solvente-soluto é submetida à uma decompressão por uma válvula redutora de pressão. Em ambos os casos, a mistura passa a ser gás-soluto, e o soluto é então recolhido (POURMORTAZAVI; HAJIMIRSADEGHI, 2007).

O grande interesse em extração com fluido supercrítico surge a partir de suas propriedades, as quais são intermediárias entre a dos gases e líquidos (MANTELL et al., 2013). A densidade, próxima à dos líquidos (alta), está relacionada com o poder de solvatação do solvente. Já a viscosidade, próxima a dos gases (baixa), 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). Esta combinação de características permite que os

fluidos supercríticos ou pressurizados tenham boas condições de ser utilizados em processos de extração de solutos a partir de matrizes sólidas (BRUNNER, 2005).

A solubilidade de extratos no fluido é função da densidade do solvente e da pressão de vapor do soluto. Outra característica importante é que o poder solvatante pode ser controlado em função da pressão e da temperatura, sendo que, na região do ponto crítico, pequenas alterações desses parâmetros podem provocar grandes mudanças no poder solvatante (DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

Figura 3: Modelo experimental de extração



Fonte: Soares et al., 2015

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).

Em comparação com os solventes líquidos, utilizados no processo de extração convencional, os fluidos supercríticos e pressurizados apresentam 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; CONWAY; LECLERC, 2014). Desta forma a utilização desta técnica se torna eficaz para extração e separação de componentes (RAVENTÓS, 2002).

Ainda, devido a sua elevada seletividade, a extração supercrítica tem sido sugerida como uma alternativa aos processos de refino para obter extratos ricos em compostos de interesse (HERRERO et al., 2010).

Entre as várias aplicações deste tipo de extração pode-se destacar a descafeinação de café e chá, extração de aromas, extração de antioxidantes e outras substâncias ativas de várias partes das plantas, extração de corantes naturais, desodorização de óleos e gorduras e remoção de pesticidas (BRUNNER, 2005).

2.4.3.1 CO_2

Vários solventes têm sido estudados na extração supercrítica, como o etanol (AKALIN; KARAGÖZ; AKYÜZ, 2013), o propano e a água (HSUEH et al., 2013). No entanto, o principal solvente utilizado é o dióxido de carbono (CO_2), pois permite operações supercríticas com pressões relativamente baixas e temperaturas próximas à ambiente ($T_c = 31,1\text{ }^\circ\text{C}$; $P_c = 7,38\text{ MPa}$). Além disso, o CO_2 é reconhecido como seguro é inerte, não tóxico e não inflamável, e está facilmente disponível com elevada pureza e baixo custo (POULIOT; CONWAY; LECLERC, 2014).

Outra vantagem é que o CO_2 é gasoso à temperatura e pressão ambiente, o que torna muito simples a recuperação do extrato livre de solvente. As extrações com CO_2 , por permitirem ser conduzidas em temperaturas amenas, possibilitam a extração de compostos termolábeis ou facilmente oxidáveis (HERRERO et al., 2010).

Outra característica do CO_2 é a sua baixa polaridade, sendo ideal para extração de componentes apolares. No entanto, há a possibilidade de utilização de co-solventes (etanol, água, etc.) para mudar a polaridade do fluido e aumentar seu poder de solvatação quando se tem interesse em extração de compostos polares (HERRERO et al., 2010).

2.4.3.2 *Fluidos pressurizados*

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, como demonstrado nos

estudos de Zanqui et al. (2015), Silva et al. (2015), Novello et al. (2015) e Capeletto et al. (2016), entre outros.

Quando os gases propano e n-butano são liquefeitos, suas propriedades físico-químicas são ideais, pois possuem maior solubilidade em lipídios (YANG; TEO; XU, 2004). No entanto, poucos estudos relataram o uso do 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 o tornam uma alternativa interessante quando comparado ao CO₂, ao propano e ao n-butano (SILVA et al., 2013).

Abaide et al. (2017) avaliaram a extração de óleo de abacate e relataram resultados melhores na extração utilizando GLP comprimido do que CO₂ supercrítico, apresentando maiores rendimentos em períodos de tempo reduzidos. Resultados similares foram reportados por Soares et al. (2016) na extração de óleo de farelo de arroz com GLP comprimido.

2.5 ÁCIDOS GRAXOS E A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA (DAC)

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2013), a doença arterial coronariana (DAC) é a principal causa de morte no mundo, causando aproximadamente 38 milhões mortes anualmente no mundo (WHO, 2014).

Dentre os constituintes da nossa dieta, os lipídios associam-se com mais frequência aos fatores de risco nas patologias cardiovasculares, contudo, é o colesterol sanguíneo o mais importante e modificável fator de risco para as DACs, sendo que, uma sustentável redução da concentração do colesterol sanguíneo total de 1% está associada com 2 a 3% de redução na incidência dessas doenças (TANG; ARMITAGE; LANCASTER, 1998). O nível plasmático de colesterol é modulado pelos tipos de lipídios presentes na dieta. As dietas ocidentais têm alto índice de ácidos graxos saturados em sua composição, especialmente os de origem animal, o que contribui para a aceleração da formação da placa aterosclerótica (HU; STAMPFER; MANSON, 1999). Modelos experimentais realizados com gordura saturada, utilizando os ácidos graxos láurico (12:0), mirístico (14:0) e palmítico (16:0) mostram que estes ácidos graxos saturados estão implicados na elevação dos níveis séricos de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e elevação da pressão arterial (BENOIT; KEMP; ELIAS, 2009).

De acordo com o estudo de Kannel (2000), níveis aumentados de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diminuídos de lipoproteínas de alta densidade (HDL) estão associados com aumento do risco de DAC. Reduzir os níveis de LDL através do aumento da quantidade de óleos poli-insaturados e a diminuição de gorduras saturadas nas dietas é uma forma bem estabelecida de diminuir o risco de eventos cardiovasculares (BAIGENT et al. 2010).

O consumo de gorduras saturadas deve ser limitado, porém o mais importante é sua substituição parcial por insaturadas, principalmente por poli-insaturadas, que estão associadas a diminuição de colesterol total e LDL, e conseqüentemente à diminuição de eventos e mortes cardiovasculares (BERGER et al., 2015).

Assim, há um grande interesse nas propriedades nutricionais dos ácidos graxos poli-insaturados, particularmente os da família ω -3, presentes nos peixes de águas frias, nas carnes e nas sementes oleaginosas como a canola, a semente de linhaça (DEGENHARDT; HABBEN; WINTERHALTER, 2002) e a semente de chia (IXTAINA et al., 2011).

Indivíduos que reduzem o consumo de ácidos graxos saturados e aumentam a ingestão de poli-insaturados, tendem a diminuir os níveis de colesterol sanguíneo, sendo que o ácido graxo poli-insaturado α -linoléico reduz moderadamente níveis de colesterol total e LDL séricos, e o ácido graxo monoinsaturado oléico parece não ter efeitos sobre níveis de LDL, mas aumenta níveis de HDL modestamente (PEREZ-JIMENEZ et al., 2004). Acredita-se especialmente na ajuda preventiva desses ácidos graxos no desenvolvimento de distúrbios cardiovasculares e circulatórios (BEMELMANS; BROER; FESKEN, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar os processos de extração de óleo de semente de chia e perilla utilizando dióxido de carbono (CO₂) e gás liquefeito de petróleo (GLP) pressurizados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a composição centesimal das sementes de chia e perilla;
- Extrair o óleo das sementes de chia e perilla utilizando CO₂ e avaliar a influência das condições de pressão e temperatura no processo de extração;
- Extrair o óleo das sementes de chia e perilla utilizando GLP e avaliar a influência das condições de pressão e temperatura no processo de extração;
- Determinar o rendimento de cada extração, comparar os rendimentos com os obtidos utilizando o equipamento de Soxhlet (recuperação do óleo), e estabelecer quais são os pontos de maior rendimento (pontos ótimos);
- Avaliar a cinética da extração dos óleos de chia e perilla;
- Caracterizar físico-quimicamente os pontos ótimos extraídos (índice de peróxidos, índice de acidez, índice de iodo, índice de refração)
- Avaliar a atividade antioxidante dos óleos de chia e perilla extraídos, através do método DPPH;
- Determinar o perfil de ácidos graxos, por cromatografia gasosa, dos óleos de chia e perilla extraídos;
- Identificar e quantificar fitoesteróis por cromatografia gasosa, nos óleos de chia e perilla extraídos;
- Comparar o óleo de semente de chia e perilla quanto ao teor de óleo, atividade antioxidante, ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis.

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos neste trabalho foram divididos em 3 seções e estão apresentados abaixo, no formato de manuscritos.

Manuscrito 1: **“Efeito da pressão e temperatura na qualidade do óleo de chia extraído com fluidos pressurizados”** – Artigo publicado na revista “The Journal of Supercritical Fluids”, Qualis A1 em Ciência de Alimentos. (ANEXO 1).

Manuscrito 2: **“Qualidade do óleo de perilla (*Perilla frutescens*) extraído com CO₂ e GLP pressurizados”** – Artigo publicado na revista “The Journal of Supercritical Fluids”, Qualis A1 em Ciência de Alimentos. (ANEXO 2).

Manuscrito 3: **“Óleos de chia e perilla obtidos por extração com fluidos pressurizados: atividade antioxidante, ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis”** – Este artigo ainda se encontra em fase de revisão e posteriormente será submetido em revista científica da área.

4.1 MANUSCRITO 1

**EFEITO DA PRESSÃO E TEMPERATURA NA QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA
EXTRAÍDO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS**

Gabrielle Scapin^{1*}, Ederson R. Abaide², Lucielle Nunes², Márcio A. Mazzuti², Raquel G. Vendruscolo¹, Roger Wagner¹, Claudia S. da Rosa¹.

*¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*²Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*Autor correspondente: Gabrielle Scapin (gabi_scapin@yahoo.com.br)

Telefone: +55 55 999454156

Resumo

Foram utilizados CO₂ e GLP pressurizados para extração de óleo de semente de chia em diferentes pressões e temperaturas, e avaliado o efeito destas no rendimento de óleo, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos e fitoesteróis. Os pontos ótimos de rendimento foram obtidos na condição de maior pressão e temperatura tanto para CO₂ (21,93%) como para GLP (27,13%). Nesta mesma condição, o óleo extraído com GLP teve atividade antioxidante maior que o com CO₂ (70,16 AA% e 20,15 AA%, respectivamente). O perfil de ácidos graxos foi semelhante entre os dois solventes, e houve predominância do ácido graxo α -linolênico. Foram quantificados compostos bioativos tais como esqualeno, α -tocoferol e β -sitosterol, envolvidos na prevenção de doenças cardiovasculares.

Palavras chave: chia, fluidos pressurizados, ácidos poli-insaturados, fitoesteróis

1.Introdução

Chia (*Salvia hispanica*) é uma semente nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala, possui 0,25-0,38 g de óleo/g de semente, sendo que os principais constituintes são triglicerídeos, nos quais os ácidos graxos poli-insaturados α -linolênico e linoléico estão presentes em quantidades elevadas [1]. O ácido α -linolênico é conhecido por agir na prevenção de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas [2]. A chia também apresenta vários componentes bioativos, tais como fitoesteróis e tocoferóis [3].

Os métodos convencionais de extração de óleo podem, eventualmente, remover ou degradar componentes, tais como o ácido α -linolênico, fitoesteróis e tocoferóis. Em vista disto, outras técnicas de extração estão sendo exploradas, como a extração com fluidos pressurizados, um método alternativo para a extração de lipídios, que apresenta várias vantagens, tais como o uso de um solvente com alto poder solvatante, além da possibilidade de trabalhar em condições mais suaves de temperatura e pressão, causando menor degradação dos componentes bioativos [4].

O dióxido de carbono (CO₂) é o solvente mais comumente utilizado para este tipo de extração [5], no entanto, a extração com propano e n-butano comprimido também tem sido utilizada como uma tecnologia promissora, uma vez que é possível obter maior rendimento de extrato em um tempo mais curto, quando comparada com uma extração com CO₂ [6].

Também há a possibilidade do uso de gás liquefeito de petróleo (GLP) comprimido, que contém n-butano e propano como os principais constituintes. Soares et al. [7] mostrou que

o uso de GLP comprimido foi o solvente mais promissor para a extração de óleo de farelo de arroz, uma vez que período de extração foi consideravelmente reduzido em comparação ao uso de CO₂ supercrítico. No entanto, ainda não há estudos na literatura reportando seu uso para a extração de óleo de semente de chia. Assim, o objetivo deste trabalho foi extrair óleo de semente de chia com CO₂ e GLP pressurizados avaliando a influência da pressão e temperatura no rendimento da extração, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos e de fitosteróis dos mesmos, além de realizar a caracterização físico-química dos óleos obtidos pelos dois processos de extração.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras

As sementes de chia, adquiridas no comércio local da cidade de Santa Maria-RS, Brasil, tiveram procedência da cidade de Maringá-PR, Brasil. Primeiramente, foram desidratadas em estufa com ar forçado a 55 °C por 24 horas atingindo umidade de 7,36 g 100g⁻¹. Segundo Pereira e Meirelles [8] esta etapa reduz a quantidade de água do material vegetal, para que não haja uma competição da água com o soluto para interagir com o solvente, aumentando a eficiência da extração. Após, as amostras foram trituradas utilizando um moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298^a21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10), por 1min e acondicionadas em embalagem plástica escura a -4 °C até o momento dos experimentos.

2.2 Caracterização química das sementes de chia

A caracterização química das sementes de chia foi realizada de acordo com a metodologia da AOAC [9]: Umidade, pelo método de estufa a 105 °C; Resíduo mineral fixo (Cinzas), pelo uso de mufla a 550 °C; Proteínas, pelo método de Kjeldahl, utilizando o fator de 6,25; Lipídios, por Soxhlet; Fibras, pelo método enzimático (método 985.28) e Carboidratos, obtidos por diferença das demais frações.

2.3 Extração dos óleos de chia

2.3.1 Extração por solvente

A fim de comparar o rendimento das extrações envolvendo fluidos pressurizados e extração convencional, os lipídios foram extraídos com n-hexano em Soxhlet a 80 °C durante 8 h, seguindo o método padrão da IUPAC [10].

2.3.2 Extração utilizando CO₂ e GLP pressurizados

Os experimentos foram realizados em uma unidade de escala laboratorial, composta basicamente de um cilindro de solvente (CO₂ com 99,5% de pureza, procedente da Air Liquide, e GLP, (composto por uma mistura de propano (50,3%), n-butano (28,4%), isobutano (13,7%), etano (4,8% em peso) e outros constituintes menores (metano, pentano, isopentano), procedente da Ultragás), uma célula extratora (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).

Aproximadamente 5 g de amostras secas e moídas foram carregadas no vaso de extração. O solvente (CO₂ ou GLP) foi bombeado para o leito, o qual foi suportado por dois discos 300 de malha de arame em ambas as extremidades, e foi mantido em contato com a matriz herbácea durante 1 h para permitir a estabilização do sistema. Em seguida, o extrato foi recolhido ao abrir a válvula micrométrica. Os experimentos foram realizados isotermicamente e a pressão constante. A vazão de CO₂ e GLP foi fixada em 4 g min⁻¹. Para o experimento com CO₂, a extração teve duração de 150 min, e para o GLP, 5 min.

Para todas as extrações foi utilizado um planejamento experimental com 2 níveis e 2 variáveis (2²) com triplicata no ponto central conforme os níveis apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Planejamento experimental 2² com triplicata no ponto central

Experimento	CO ₂		GLP	
	P (MPa)	T(°C)	P (MPa)	T(°C)
1	10 (-1)	20 (-1)	0,5 (-1)	20 (-1)
2	25 (+1)	20 (-1)	2,5 (+1)	20 (-1)
3	10 (-1)	60 (+1)	0,5 (-1)	40 (+1)
4	25 (+1)	60 (+1)	2,5 (+1)	40 (+1)
5	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)
6	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)
7	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)

Após as extrações, foi determinado o rendimento global (X_0) de óleo extraído, calculado como a razão entre a massa total de óleo extraído (m_e) e a massa inicial (m_i) de semente de chia utilizada em cada extração (Eq. (1)) e recuperação de óleo (R_0) foi determinada pela razão entre a massa total de óleo extraída (m_e) e a massa de óleo extraída por Soxhlet ($m_{soxhlet}$) (Eq. (2)).

$$X_0 = \left(\frac{m_e}{m_i} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$R_0 = (m_e / m_{soxhlet}) \times 100 \quad (2)$$

2.4 Avaliação da cinética de extração dos óleos de chia

As curvas globais de extração foram determinadas a partir dos valores de óleo extraído acumulado em função do tempo. Para isso, durante as extrações, as amostras foram discretizadas em diferentes intervalos de tempo (dependendo do processo) para quantificação da massa extraída, que foi recolhida em tubos de ensaio e pesada.

2.5 Atividade antioxidante dos óleos de chia pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A determinação da atividade antioxidante dos óleos foi realizada utilizando o método de sequestro de radicais livres (DPPH•- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) segundo metodologia descrita por Zao et al. [11]. As amostras de óleo de semente de chia foram diluídas em etanol a uma concentração de $40 \text{ mg}_{\text{óleo}} \cdot \text{mL}^{-1}_{\text{etanol}}$, definida a partir de testes feitos previamente. A metodologia foi conduzida da seguinte maneira: 1500 μL da amostra diluída foram adicionadas a 1480 μL da solução de DPPH 0,1 mM e 20 μL de etanol. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra contendo 1500 μL da amostra diluída e 1500 μL de etanol, e um branco para o DPPH contendo 1480 μL de solução de DPPH e 1520 μL de etanol. A leitura em espectrofotômetro UV-VIS (UV-2600, Shimadzu) a 522nm foi realizada após 30 minutos de reação sob abrigo da luz. O cálculo da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi realizado através da equação abaixo (Eq. (3)).

$$AA_{DPPH} = \left(\frac{A_{DPPH} - (A - A_B)}{A_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde, A_{DPPH} corresponde a absorbância da solução de DPPH, A e A_B as absorbâncias da amostra e branco, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

2.6 Caracterização físico-química dos óleos de chia

A caracterização dos óleos de chia foi realizada nas amostras que apresentaram maior rendimento (pontos ótimos). As análises físico-químicas procederam-se de acordo com a AOCS [12], onde foram analisadas: Índice de acidez (método Cd 3d-63); Índice de iodo pelo método de Wijs (método Cd 1-25); Índice de peróxidos (método Cd 8-53) e Índice de refração em refratômetro Abbé (método Cc 7-25).

2.7 Perfil de ácidos graxos dos óleos de chia

Para obtenção do perfil de ácidos graxos das amostras obtidas pela extração com CO_2 e GLP pressurizados, cerca de 100 mg das mesmas foram pesadas em tubos de ensaio contendo 1 mg do padrão interno (Pi) tricosanoato de metila ($\text{C}_{23:0}\text{Me}$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Após foram derivatizados de acordo o método descrito por Hartman e Lago [13].

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram analisados pela injeção de 1 μL em cromatógrafo à gás equipado com detector de ionização em chama (GC-FID) da marca Varian, modelo Star 3400 CX (CA, USA) e amostrador automático Varian, modelo 8200 (CA, USA). O injetor manteve-se no modo *split* com razão 50:1 e temperatura de 250 °C. Gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 15 psi. Os FAMEs foram separados em coluna capilar CP-Wax 52 CB (Middelburg, The Netherlands) (50 m \times 0,32 mm \times 0,20 μm). A temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, onde permaneceu 1 min, aumentando para 180 °C com taxa de 10 °C min^{-1} , após até 200 °C com taxa de aumento de 2 °C min^{-1} e então com taxa de 10 °C min^{-1} até atingir 230 °C mantendo-se em isoterma por 5 min. O detector foi mantido a temperatura de 240 °C. A identificação dos FAME foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos analitos com padrões FAME Mix-37 (P/N 47885-U; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácidos graxos a partir do uso do Pi de massa conhecida e dos fatores de correção do FID [14].

2.8 Determinação de fitoesteróis dos óleos de chia

Os óleos de semente de chia obtidos nas extrações com CO_2 e GLP pressurizados também derivatizados pelo método descrito por Hartman e Lago [13] foram analisados em cromatógrafo à gás equipado com detector de ionização em chama (GC-FID) da marca Varian, modelo Star 3400 (CA, USA) e amostrador automático Varian, modelo 8100 (CA, USA). Procedeu-se a injeção de 1 μL da amostra em injetor no modo *splitless* por 1 min seguido *split* com razão 30:1 e temperatura de 320 °C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 15 psi. Os fitoesteróis foram separados em coluna capilar RTX-5MS (Restek-USA) (30m \times 0,25 mm \times 0,25 μm). A temperatura inicial da coluna foi de 200 °C, onde permaneceu 5 min, aumentando para 280 °C com taxa de 15 °C min^{-1} e então com taxa de 5 °C min^{-1} até atingir 330 °C, mantendo-se em isoterma por 10 min. O detector foi mantido a temperatura de 320 °C. Os fitoesteróis foram positivamente identificados pela comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massa dos analitos com os dos padrões de α -tocoferol, β -sitosterol e esqualeno, obtidos em cromatógrafo à gás acoplado ao espectrômetro de massas (GC/MS) Shimadzu, QP-2010 Plus (Tokyo, Japan) nas mesmas condições cromatográficas descritas acima, utilizando hélio como gás de arraste, operando no modo de ionização por elétrons (IE) a 70 Ev, com varredura de 35 a 350 m/z. A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa, comparando-se as áreas obtidas de

soluções de concentrações conhecidas dos padrões de α -tocoferol, β -sitosterol e esqualeno com as áreas obtidas das amostras de óleo por meio de uma curva.

2.9 *Análise estatística*

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o software STATISTICA® 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK 74104, EUA) onde foram avaliados os efeitos das variáveis independentes (pressão e temperatura) sobre as variáveis dependentes (rendimento da extração, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos, fitoesteróis) no processo de extração com CO₂ e GLP, considerando 95% de nível de confiança para todas as variáveis.

3. Resultados e Discussão

3.1 *Composição química das sementes de chia*

As sementes de chia antes da etapa de pré-secagem por 24 horas apresentaram conteúdo de umidade de 11,15 g 100g⁻¹, teores de cinza de 5,67 g 100g⁻¹ e fibra 27,44 g 100g⁻¹. Foram verificados valores de 20,34 g 100g⁻¹ para proteínas e 32,78 g 100g⁻¹ para lipídios, resultados de acordo com Ayerza [15] que reportou que a semente de chia apresenta de 25-39 g 100g⁻¹ de lipídios e 19-27 g 100g⁻¹ de proteína e muito próximos aos dados relatados por Martínéz et al. [16] que encontraram 21,8 g 100g⁻¹ de proteína e 31,7 g 100g⁻¹ de lipídios.

3.2 *Extrações do óleo de chia com fluidos pressurizados*

Os rendimentos e recuperação do óleo de semente de chia nas diferentes condições de extração utilizando CO₂ e GLP pressurizados como solvente estão apresentados na Tabela 2. Utilizando o CO₂ como solvente, observa-se que o maior rendimento (21,93%) e maior recuperação do óleo (66,91%) foi obtido na condição de 25 MPa/60 °C. Por outro lado, o menor rendimento (0,30%) e recuperação (0,93%) foi encontrado na condição 10 MPa/60 °C. Observa-se que com o aumento da pressão, independentemente da temperatura utilizada, houve um aumento no rendimento de óleo, devido ao aumento na densidade e poder de solvatação do CO₂.

Por outro lado, a temperatura de extração influencia na densidade do solvente e na pressão de vapor do soluto, dependendo da intensidade da pressão de operação. Observa-se

que à pressão de 10 MPa, o aumento na temperatura de 20 para 60 °C, levou a uma alta redução no rendimento de óleo. Tal fato é atribuído ao decréscimo na densidade do solvente com o aumento da temperatura quando são utilizadas pressões mais próximas à pressão crítica, que diminui a solubilidade do óleo no CO₂. Por outro lado, à pressões mais elevadas, um aumento na temperatura causa um aumento na pressão de vapor do soluto, aumentando a solubilidade deste no solvente, como pode ser observado à pressão de 25 MPa, quando um aumento na temperatura de 20 para 60 °C causou um aumento no rendimento de óleo.

Ainda de acordo com a Tabela 2, nas extrações utilizando GLP comprimido como solvente, observa-se que o maior rendimento (27,13%) e o maior recuperação do óleo (82,78%) foi obtido na condição 2,5 MPa/40 °C. Por outro lado, o menor rendimento (<0,1%) e recuperação (<0,3%) do óleo foi obtido na condição 0,5 MPa/40 °C. Dados semelhantes foram encontrados por Zanqui et al. [2] que extraíram óleo de chia utilizando n-propano comprimido e encontraram rendimentos de 23,61 a 28,16%, dependendo das condições de pressão e temperatura utilizadas no processo, que variaram de 8-12 MPa e 30-60 °C.

Pode-se observar que, à pressão de 0,5 MPa, um aumento na temperatura de 20 °C para 40 °C causou drástica redução no rendimento de óleo. Quanto maior a temperatura, maiores as quantidades de constituintes de GLP na fase de vapor, diminuindo a densidade, com a consequente diminuição no poder de solvatação [17].

Tabela 2: Rendimento e recuperação do óleo de chia obtidos por extração com CO₂ e GLP pressurizados variando pressão e temperatura

Experimento	Solvente	P (MPa)	T (°C)	t (min)	Rendimento (%)	Recuperação (%)
1	CO ₂	10	20	150	15,87	48,41
2	CO ₂	25	20	150	19,40	59,19
3	CO ₂	10	60	150	0,30	0,93
4	CO ₂	25	60	150	21,93	66,91
5	CO ₂	17,5	40	150	17,40±0,39	53,08±1,19
1	GLP	0,5	20	5	21,54	65,71
2	GLP	2,5	20	5	20,82	63,50
3	GLP	0,5	40	5	<0,1	<0,30
4	GLP	2,5	40	5	27,13	82,78
5	GLP	1,5	30	5	24,78±0,89	75,60±2,73
Soxhlet	n-hexano	-	ebulição	480	32,78	100

O experimento 5 corresponde a média±desvio padrão da triplicata do ponto central

Em comparação com a extração de óleo de chia utilizando CO₂ as extrações utilizando GLP como solvente mostraram-se efetivamente mais rápidas (5 minutos) e com porcentagens de rendimento e recuperação bastante elevados.

Os resultados da influência da pressão e da temperatura no rendimento de extração com CO₂ e GLP pressurizados estão apresentadas na Tabela 3. Nas extrações com CO₂, a interação entre as duas variáveis (pressão e temperatura) foi significativa ($p < 0,05$) e positiva, mostrando que o aumento de ambas as variáveis leva a um maior rendimento. Observando cada variável isoladamente, observa-se que o efeito da pressão no rendimento de óleo também foi significativo ($p < 0,05$) e positivo. Já a temperatura teve efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo.

Tabela 3: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) no rendimento da extração de óleo de chia com CO₂ e GLP pressurizados

	CO ₂			GLP		
	Efeito	Erro padrão	p	Efeito	Erro padrão	p
Média/Interação	15,676	0,147	<0,001*	20,566	0,338	<0,001*
(1) Pressão	12,581	0,390	<0,001*	13,158	0,896	0,004*
(2) Temperatura	-6,518	0,390	0,003*	-7,563	0,896	0,013*
1X2	9,050	0,390	0,001*	13,881	0,896	0,004*

[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Efeitos semelhantes foram relatados por Ixtaina et al. [18] ao avaliarem a extração de óleos de sementes de chia provenientes do México, e a mudança na condição de extração de 25 MPa/60 °C para 35 MPa/80 °C causou um aumento no rendimento do óleo de 18 para 34%, em uma extração de 150 min, utilizando CO₂ supercrítico como solvente. Observa-se que o presente estudo alcançou resultados superiores na extração a 25 MPa/60 °C por 150 min (21,93%).

Da mesma forma, nas extrações com GLP (Tabela 3) houve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo de interação entre a pressão e temperatura. Quando analisadas separadamente, a pressão teve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo, enquanto a temperatura teve efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo.

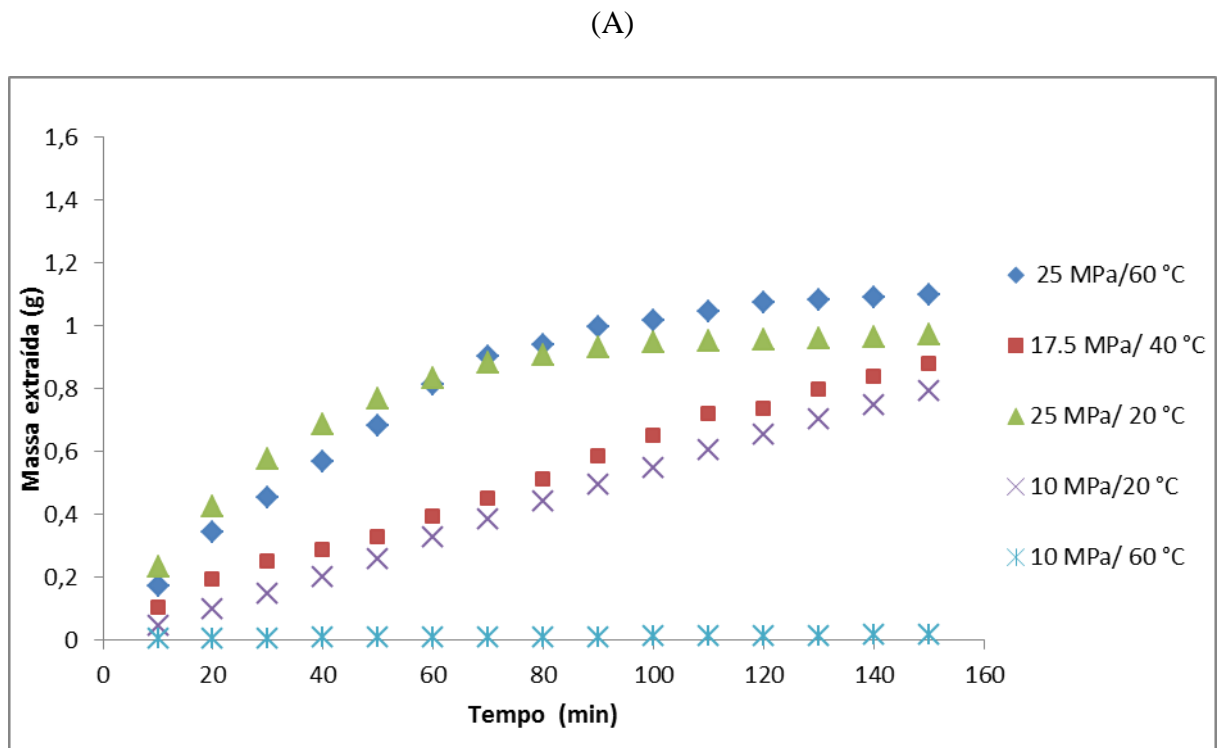
Efeitos semelhantes foram obtidos por Zanqui et al. [2] quando foram alteradas as condições de extração do óleo de chia com n-propano de 8 MPa/30 °C para 10 MPa/45 °C, e os rendimentos aumentaram de 23,61 para 28,16 %.

3.3 Cinética das extrações do óleo de chia com fluidos pressurizados

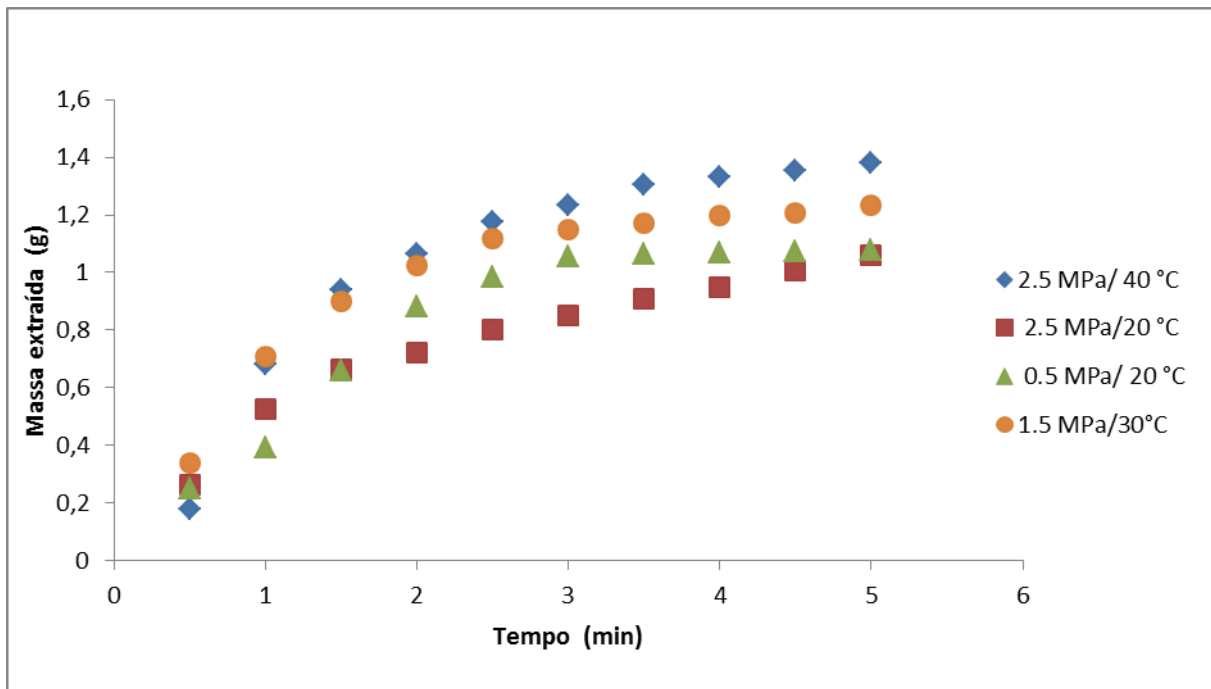
Observa-se de acordo com a Figura 1A, nas extrações com CO₂, que ao fim dos 150 min de extração, a condição 25 MPa/60 °C obteve um rendimento máximo, ou seja, a taxa de extração nesta condição foi significativamente maior. Isto ocorre porque com pressões maiores, a densidade do solvente aumenta, e o óleo é facilmente extraído e dissolvido na fase fluida devido ao aumento do poder de solvatação do CO₂. Ainda, a interação de pressões mais altas com temperaturas mais altas leva a um maior rendimento de óleo. Da mesma forma, nas

extrações com GLP (Figura 1B) observou-se que a condição 2,5 MPa/40 °C foi a que apresentou maior rendimento ao final dos 5 min de extração, novamente demonstrando o efeito positivo da interação entre pressão e temperatura no rendimento final de óleo de chia. Na condição 0,5 MPa/40 °C não foi realizada curva cinética, em razão do rendimento de extração ser muito baixo.

Figura 1: Curva cinética da extração de óleo de chia com A) CO₂ B) GLP



(B)



3.4 Caracterização dos pontos ótimos do óleo de chia extraído com CO₂ e GLP comprimido

A Tabela 4 mostra os resultados encontrados para índice de acidez, índice de iodo, peróxidos e índice de refração dos pontos ótimos (pontos de maior rendimento) dos óleos de chia. Para extração do óleo de chia com CO₂, o ponto ótimo foi 25 MPa/60 °C e para GLP foi 2,5 MPa/40 °C.

Tabela 4: Caracterização físico-química dos pontos ótimos do óleo de chia

Extração	Acidez (mg KOH g ⁻¹)	Índice de Iodo (g I ₂ 100g ⁻¹)	Peróxidos (mEQ O ₂ Kg ⁻¹)	Índice de refração
CO ₂	1,10 ^a ±0,14	147,42 ^b ±0,75	1,60 ^a ±0,34	1,47 ^a ±<0,01
GLP	1,45 ^a ±0,22	167,05 ^a ±0,64	1,43 ^a ±0,27	1,47 ^a ±<0,01
Soxhlet	2,39 ^b ±0,14	145,87 ^b ±0,65	1,87 ^a ±0,11	1,47 ^a ±<0,01

Os valores expressos como média ± desvio padrão com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p <0,05) pelo teste de Tukey.

Análises realizadas em triplicata.

Segundo a RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005 [19], que aprova o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal, óleos vegetais não refinados podem apresentar índice de acidez de até 4 mg KOH g⁻¹ e índice de peróxidos de 15 mEQ O₂ Kg⁻¹.

Os valores encontrados neste trabalho (Tabela 4) para o índice de acidez, que avalia o estado de conservação do óleo, foram de 1,10 e 1,45 mg KOH g⁻¹, para o óleo extraído com CO₂ e GLP, respectivamente não apresentando diferença estatística significativa (p>0,05) entre eles. Estes resultados foram mais elevados que os encontrados por Ixtaina et al. [18] que relataram acidez de 0,81 mg KOH g⁻¹ para óleo de chia extraído com CO₂ supercrítico nas condições 45 MPa/ 80 °C. O óleo de chia extraído por Soxhlet apresentou diferença estatística (p<0,05) em relação aos demais tipos de extração, mostrando que a qualidade do óleo foi preservada na extração com fluidos pressurizados. Ixtaina et al. [1] relataram valores de 2,05 mg KOH g⁻¹ para a extração do óleo de chia por solventes, valores similares aos encontrados neste estudo (2,39 mg KOH g⁻¹).

O índice de peróxido, um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras, apresentou valores de 1,43, 1,60 e 1,87 mEQ O₂ Kg⁻¹ para o óleo de chia extraído por GLP, CO₂ e Soxhlet, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre eles (p>0,05). Estes resultados foram mais elevados que os relatados por Ixtaina et al. [18] que encontraram 0,61 mEQ O₂ Kg⁻¹ para o óleo de chia extraído com CO₂ supercrítico nas condições 45 MPa/ 80 °C e 0,82 mEQ O₂ Kg⁻¹ para extração com Soxhlet.

Os valores de índice de iodo, que mede o grau de insaturação de um óleo ou de uma gordura variaram de 147,42 e 167,05 g I₂ 100g⁻¹, para a extração com CO₂ e GLP, respectivamente. Os resultados foram inferiores aos encontrados por Ixtaina et al. [18], que foram de 202 g I₂ 100g⁻¹ para o óleo de chia extraído com CO₂ supercrítico a pressão de 45 MPa e 80 °C e 200,3 g I₂ 100g⁻¹ para o óleo de chia extraído pelo método de Soxhlet, valor superior ao encontrado neste estudo (145,87 g I₂ 100g⁻¹).

O índice de refração de uma gordura aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos [20]. O índice de refração do óleo de chia extraído por CO₂ e GLP não apresentou diferença significativa entre si (p>0,05) e entre o óleo extraído por Soxhlet. Os resultados encontrados estão em concordância com Ixtaina et al. [1] que encontraram valores de 1,47 para extração com solventes.

3.5 Atividade antioxidante do óleo de chia

A Tabela 5 apresenta a atividade antioxidante dos óleos de chia, na concentração de 40 mg mL⁻¹ expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH.

Para as extrações com CO₂ (Tabela 5) houve diferença significativa estatística (p<0,05) entre os óleos analisados e a condição de menor atividade antioxidante (AA%) em DPPH foi a 25 MPa/60 °C (20,15%), enquanto que a que apresentou maior potencial antioxidante foi a 10 MPa/20 °C (87,00%). Isso pode ser explicado pelo fato de que na extração com CO₂ as temperaturas mais altas utilizadas no processo podem ter degradado compostos bioativos, reduzindo a atividade antioxidante.

Para as extrações com GLP também houve diferença significativa (p<0,05) entre os óleos e a condição que apresentou maior potencial antioxidante em DPPH foi a 2,5 MPa/40 °C (70,16%). A condição 10 MPa/60 °C, da extração com CO₂, e 0,5MPa/40 °C, da extração com GLP, não foram analisadas em termos de atividade antioxidante porque apresentaram um rendimento muito baixo e não houve massa de óleo suficiente para a análise .

Tabela 5: Atividade antioxidante (AA%) dos óleos de chia obtidos por CO₂ e GLP pressurizados expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

Experimento	Solvente	P (MPa)	T (°C)	AA%
1	CO ₂	10	20	87,00±0,28 ^a
2	CO ₂	25	20	64,89±0,13 ^c
4	CO ₂	25	60	20,15±0,14 ^d
5	CO ₂	17,5	40	79,47±0,43 ^b
1	GLP	0,5	20	62,49±0,47 ^b
2	GLP	2,5	20	60,21±0,24 ^d
4	GLP	2,5	40	70,16±0,18 ^a
5	GLP	1,5	30	61,52±0,09 ^c

Os valores expressos como média ± desvio padrão com diferentes letras na mesma coluna indicam diferença significativa (p <0,05) pelo teste de Tukey.

Análises realizadas em triplicata

O experimento 5 corresponde a média±desvio padrão da triplicata do ponto central

A Tabela 6 mostra o efeito das variáveis estudadas na atividade antioxidante dos óleos de chia extraídos com CO₂ e GLP pressurizados. Para as extrações com CO₂ o efeito de interação da pressão e temperatura na atividade antioxidante foi significativo ($p < 0,05$) e negativo, mostrando que o aumento na pressão e na temperatura levou a uma diminuição na atividade antioxidante do óleo. Isoladamente, houve efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo da pressão e a temperatura não apresentou efeito significativo ($p > 0,05$).

Tabela 6: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na atividade antioxidante do óleo de chia extraído com fluidos pressurizados

	CO ₂			GLP		
	Efeito	Erro padrão	p	Efeito	Erro padrão	p
Média/Interação	78,969	0,425	<0,001*	61,230	0,180	<0,001*
(1) pressão	-72,603	1,34	<0,001*	8,050	0,570	0,004*
(2) Temperatura	5,59	1,34	0,053	-0,620	0,570	0,390
1X2	-50,303	1,34	<0,001*	10,850	0,570	0,002*

[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Ainda de acordo com a Tabela 6, para as extrações com GLP, o efeito de interação da pressão e temperatura na atividade antioxidante foi significativo ($p < 0,05$) e positivo, mostrando que o aumento na pressão e na temperatura leva a uma aumento na atividade antioxidante do óleo de chia. Houve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo da pressão isoladamente e a temperatura não apresentou efeito significativo ($p > 0,05$).

Analisando os resultados de atividade antioxidante em DPPH para o óleo de chia extraído com CO₂ e GLP pressurizados, pode-se observar que a extração com CO₂ apresentou óleos com atividade antioxidante maior. No entanto, nos pontos ótimos de rendimento para as duas extrações, observou-se que os resultados de atividade antioxidante foram maiores para a extração com GLP do que com CO₂ (70,16 e 20,15%, respectivamente).

3.6 Perfil de ácidos graxos e fitoesteróis dos óleos de chia extraídos com CO₂ e GLP pressurizados

Para os óleos extraídos com CO₂ (Tabela 7) foi possível identificar 17 ácidos graxos diferentes, onde o ácido graxo majoritário foi o linolênico (C18:3n3) seguido do linoléico (C18:2n6c). Outro ácido graxo insaturado obtido em concentração elevada foi o oléico (C18:1n9) e, entre os saturados, o ácido graxo palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0).

A razão n6/n3 variou de 0,29 (25 MPa/20 °C) a 0,34 (25 MPa/60 °C). Os ácidos graxos n3 são essenciais para os seres humanos e suas propriedades benéficas são geralmente atribuídas a proporção n6/n3 [21]. Os ácidos graxos de chia estão entre óleos que oferecem menor quantidade de n6 do que de n3, podendo ser utilizado como fonte de ácido α -linolênico para enriquecer a dieta, e conseqüentemente, reduzir a razão n6/n3 da mesma.

A razão poli-insaturados/saturados (PUFA/SFA) variou de 5,17 a 7,22, onde o maior valor foi obtido condição 25 MPa/20 °C, mostrando que com maiores pressões e menores temperaturas houve maior extração de compostos poli-insaturados em relação a saturados.

Resultados semelhantes foram relatados por Sargi et al. [22], que identificaram o ácido graxo α -linolênico, linoléico e oléico como majoritários no óleo de chia e proporção n6/n3 de 0,32 e Ixtaina et al. [18] que quantificaram ácido palmítico (6,8-14,0%), esteárico (2,5-13,0%), oléico (3,9-11,1%), linoléico (19,6-35,0%) e linolênico (44,4-63,4%).

Estatisticamente, não foi possível estabelecer relações para o efeito de pressão, temperatura, e interação entre pressão e temperatura (dentro da faixa estudada) nos valores de ácidos graxos encontrados para os óleos de chia extraídos com CO₂.

Da mesma forma, Ixtaina et al. [23] avaliaram a extração de óleo de chia com CO₂ supercrítico utilizando as pressões 25 e 45 MPa e temperaturas de 40 e 60 °C. Os resultados encontrados para o perfil de ácidos graxos mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os óleos extraídos nas diferentes condições de temperatura e pressão quanto ao teor de ácido graxo α -linolênico, linoléico, oléico, palmítico e esteárico. A proporção n6/n3 também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) e apresentou valor de 0,3 para todas as condições.

Tabela 7: Perfil de ácidos graxos (%) e fitoesteróis (mg 100g⁻¹) do óleo de chia extraído com CO₂ e GLP pressurizados

Ácido Graxo	CO ₂				GLP			
	1	2	4	5	1	2	4	5
C14:0	0,05	0,04	0,05	0,03±<0,01	0,04	0,04	0,03	0,03±<0,01
C15:0	0,03	0,02	0,03	0,02±<0,01	0,02	0,02	0,02	0,02±<0,01
C16:0	8,76	7,76	10,15	8,13±0,32	7,82	7,76	7,88	7,78±0,42
C16:1	0,09	0,08	0,45	0,08±<0,01	0,08	0,08	0,07	0,08±<0,01
C17:0	0,05	0,05	0,06	0,05±<0,01	0,05	0,05	0,05	0,05±<0,01
C18:0	2,99	3,04	3,33	3,49±0,12	3,60	3,56	3,58	3,53±0,30
C18:1n9c	5,39	5,34	9,05	6,04±0,47	5,79	5,80	5,77	6,04±0,62
C18:2n6c	18,95	18,47	18,74	18,72±0,13	18,73	18,72	18,87	18,49±0,07
C18:3n6	0,07	0,07	0,07	0,08±<0,01	0,08	0,08	0,08	0,08±<0,01
C18:3n3	61,40	62,97	54,72	60,63±0,30	60,75	60,65	60,99	61,43±1,36
C20:0	0,25	0,26	0,32	0,34±0,03	0,39	0,38	0,38	0,36±<0,01
C20:1	0,10	0,11	0,11	0,13±0,01	0,14	0,14	0,14	0,14±<0,01
C20:2	0,04	0,04	0,04	0,04±<0,01	0,05	0,05	0,05	0,05±<0,01
C21:0	0,04	0,04	0,04	0,04±<0,01	0,05	0,05	0,05	0,05±<0,01
C20:5n3	0,08	0,07	0,13	0,11±0,01	0,14	0,13	0,12	0,12±<0,01
C22:0	0,02	0,02	0,03	0,02±<0,01	0,03	0,04	0,02	0,02±<0,01
C24:0	0,06	0,06	0,22	0,12±0,01	0,16	0,14	0,14	0,12±0,01
SFA	12,24	11,29	14,23	12,26±0,34	12,16	12,05	12,15	11,97±0,77
MUFA	5,58	5,52	9,62	6,25±0,47	6,01	6,02	5,99	6,26±0,63
PUFA	80,53	81,62	73,69	79,59±0,43	79,74	79,62	80,11	80,16±1,30
n6/n3	0,31	0,29	0,34	0,31±<0,01	0,30	0,31	0,31	0,30±0,00
PUFA/SFA	6,58	7,22	5,17	6,49±0,18	6,55	6,60	6,59	6,71±0,53
esqualeno	22,00	1,82	44,57	18,18±2,12	40,73	35,46	12,32	27,15±1,05
α-tocoferol	22,95	nd	7,87	nd	6,52	nd	nd	5,51±0,71
β-sitosterol	77,10	6,11	87,31	36,46±3,57	62,04	39,52	12,048	28,65±0,87

Condições para CO₂: 1 (10 MPa/20 °C), 2 (25 MPa/20 °C), 4 (25 MPa/60 °C), 5 (17,5 MPa/40 °C).

Condições para GLP: 1 (0,5 MPa/20 °C), 2 (2,5 MPa/20 °C), 4 (2,5 MPa/40 °C), 5 (1,5 MPa/30 °C).

O experimento 5 corresponde a média±desvio padrão da triplicata do ponto central

SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados, nd: não detectado.

Quanto aos fitoesteróis dos óleos extraídos com CO₂ (Tabela 7) foi possível identificar esqualeno nas amostras e os valores variaram de 1,82 mg 100g⁻¹ (25 MPa/20 °C) a 44,57 mg 100g⁻¹ (25 MPa/40 °C). Os valores de α-tocoferol quantificados foram de 7,87 e 22,95 mg 100g⁻¹, onde a condição 10 MPa/20 °C apresentou o maior valor. Para β-sitosterol, os valores variaram de 6,11 mg 100g⁻¹ (25 MPa/20 °C) a 87,31 mg 100g⁻¹ (25 MPa/40 °C).

Da mesma forma, para os óleos extraídos com GLP (Tabela 7) os ácidos graxos majoritários foram o C18:3n3, C18:2n6 e o C18:1n9. Para a razão n6/n3 os resultados variaram de 0,30 a 0,31, evidenciando, novamente, que o óleo de chia oferece menor quantidade de n6 do que de n3. Para a razão poli-insaturados/saturados (PUFA/SFA) os resultados variaram de 6,59 a 6,71, onde a condição 1,5 MPa/30 °C obteve maiores valores.

Não foi possível estabelecer relações estatísticas para o efeito de pressão, temperatura, e interação entre pressão e temperatura (dentro da faixa estudada) nos valores de ácidos graxos encontrados para os óleos de chia extraídos com GLP comprimido.

Da mesma forma, Zanqui et al. [2] avaliaram a extração de óleo de chia utilizando n-propano comprimido como solvente variando pressão (8-12 MPa) e temperatura (30-60 °C) de extração e os principais ácidos graxos encontrados foram ácido α-linolênico, linoléico, oléico, palmítico e esteárico. A razão n6/n3 variou de 0,32 a 0,35 e relataram não haver diferença significativa (p>0,05) para o perfil de ácidos graxos entre as diferentes condições de pressão e temperatura testadas entre si.

Em relação a fitoesteróis dos óleos extraídos com GLP também foi possível identificar esqualeno e os valores variaram de 12,32 mg 100g⁻¹ (2,5 MPa/40 °C) a 40,76 mg 100g⁻¹ (0,5 MPa/20 °C). O composto α-tocoferol variou de 4,93 a 6,52 mg 100g⁻¹, onde a condição 0,5 MPa/20 °C apresentou o maior valor. Para β-sitosterol, os valores variaram de 12,08 mg 100g⁻¹ (2,5 MPa/40 °C) a 62,04 mg 100g⁻¹ (0,5 MPa/20 °C).

A Tabela 8 mostra a influência da pressão e da temperatura na quantificação dos compostos bioativos nos óleos de semente de chia obtidos nas extrações com CO₂ e GLP pressurizados. Para os óleos extraídos com CO₂, pode-se observar que houve efeito significativo (p<0,05) e positivo de interação entre a pressão e temperatura. Já para os óleos extraídos com GLP a extração não aconteceu da mesma forma, e houve efeito significativo (p<0,05) e negativo da temperatura, isoladamente. Não foi possível estabelecer a influência

estatística da pressão e temperatura na variável α -tocoferol nas extrações com CO₂ e GLP pressurizados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Soares et al. [7] para a composição química de óleo de farelo de arroz extraído com CO₂ supercrítico utilizando pressões de 15-25 MPa e temperatura de 40-80 °C, onde as maiores concentrações de β -sitosterol foram encontradas nas condições de 20 MPa/60 °C e 25 MPa/80 °C, não sendo possível a identificação do composto em pressões e temperaturas mais baixas. Ainda, Dal Prá et al. [17], analisaram o óleo de bagaço de palma extraído com CO₂ pressurizado (10-25 MPa e 20-60 °C) e identificaram teores mais baixos de esqualeno na condição de 25 MPa/20 °C, concordando com o resultado obtido neste estudo.

Tabela 8: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na variável esqualeno e β -sitosterol dos óleos extraídos com CO₂ e GLP pressurizados

	Esqualeno			β -sitosterol		
	CO ₂					
	Efeitos	Erro Padrão	p	Efeitos	Erro Padrão	P
Média/Interação	18,183	1,225	0,004*	36,463	2,061	0,003*
(1) Pressão	10,035	3,875	0,122	20,495	6,519	0,088
(2) Temperatura	12,533	3,875	0,083	-10,290	6,519	0,255
1X2	30,216	3,875	0,016*	91,488	6,519	0,004*
	GLP					
	Efeitos	Erro Padrão	p	Efeitos	Erro Padrão	P
Média/Interação	27,154	0,609	<0,001*	28,628	0,503	<0,001*
(1) pressão	-6,518	1,926	0,077	-5,645	1,593	0,071
(2) Temperatura	-21,892	1,926	0,007*	-44,315	1,593	0,001*
1X2	-1,247	1,926	0,583	16,872	1,593	0,088

[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Por outro lado, Zanqui et al. [2] em seu estudo sobre a composição de óleos de chia extraídos com propano subcrítico em diferentes pressões (8-12 MPa) e temperaturas (30-60 °C) avaliaram fitoesteróis e tocoferóis por cromatografia gasosa, e os maiores teores β -tocoferol (25,69 mg 100g⁻¹) e β -sitosterol (182,86 mg 100g⁻¹) foram encontrados na condição 8 MPa/60 °C, condição de maior temperatura, diferindo dos resultados encontrados neste estudo.

4. Conclusões

A obtenção do óleo de chia através da extração com fluidos pressurizados teve efeito positivo de interação entre pressão e temperatura no processo, e um rendimento mais elevado foi obtido com GLP (27,13%, na condição 2,5 MPa/40 °C) do que com CO₂ (21,93%, na condição 25 MPa/60 °C). Nestas condições, o óleo obtido com GLP mostrou atividade antioxidante em DPPH maior do que o obtido com CO₂ (70,16 AA% e 20,15 AA%, respectivamente).

Os óleos extraídos por CO₂ ou GLP pressurizados ficaram dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação. A composição de ácidos graxos dos óleos extraídos pelos dois fluidos pressurizados nas diferentes condições de pressão e temperatura foi bastante similar, onde o ácido graxo α -linolênico foi o majoritário em todas as amostras.

Dessa forma, conclui-se que o GLP comprimido foi um solvente promissor na extração dos óleos de chia devido a altos rendimentos em tempos extremamente reduzidos e maiores atividades antioxidantes nos pontos ótimos. Entretanto, os dois solventes foram eficientes para extração de óleos com altas quantidades de ácido α -linolênico e compostos bioativos.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos de doutorado ao primeiro autor.

Referências

- [1] V. Y. Ixtaina, M. L. Martínéz, V. Spotorno, C. M. Mateo, D. M. Maestri, B. W. K. Diehl, Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction, *J. Food Comp. Anal.* 24 (2011) 166- 174.
- [2] A. B. Zanqui, D. R. Morais, C. M. Silva, J. M. Santos, L. U. Chiavelli, P.R.S. Bittencourt, M. N. Eberlin, J. V. Visentainer, L. Cardozo, M. Matsushita, Subcritical Extraction of *Salvia hispanica* L. Oil with *N*-Propane: Composition, Purity and Oxidation Stability as Compared to the Oils Obtained by Conventional Solvent Extraction Methods, *J. Braz. Chem. Soc.* 26 (2015) 282-289.
- [3] R. A. Moreau, B. D. Whitaker, K. B. Hicks, Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses, *Prog. Lipid Res.* 41 (2002) 457-500.
- [4] V. A. S. Garcia, V. F. Cabral, E. F. Zanoelo, C. Silva, L. Cardozo-Filho, Extraction of Mucuna Seed Oil Using Supercritical Carbon Dioxide to Increase the Concentration of L-Dopa in the Defatted Meal, *J. Supercrit. Fluids* 69 (2012) 75-81.
- [5] M. M. Pederssetti, F. S. Palú, E. A. Rohling, J. Hillmann, L. Cardozo-Filho, C. Dariva, Extraction of canola seed (*Brassica napus*) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide, *J. Food Eng.* 102 (2011) 189-196.
- [6] M.P. Corso, M.R. Fagundes-Klena, E.A. Silva, L.C. Filho, J.N. Santos, L.S. Freitas, C. Dariva, Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids* 52 (2010) 56-61.
- [7] J. F. Soares, V. Dal Prá, M. Souza, F. C. Lunelli, E. Abaide, J. R. F. Silva, R. C. Kuhn, J. Martinez, M. A. Mazutti, Extraction of rice bran oil using supercritical CO₂ and compressed liquefied petroleum gas, *J. Food Eng.* 170 (2016) 58-63.
- [8] C.G. Pereira, M.A.A. Meirelles, Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives, *Food Bioprocess Tech.* 3 (2010) 340-372.

- [9] AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists, 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- [10] IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates. 7th ed, Blackwell Scientific Publications Inc., Oxford, England, 1992.
- [11] H. Zhao, J. Dong, J. Lu, J. Chen, Y. Li, L. Shan, Effects of extraction solvent mixtures and antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.), *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 7277–7286.
- [12] AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Washington, 2004.
- [13] L. Hartman, R. C. A. Lago, Rapid preparation of fatty acids methyl esters, *Lab Pract.* 22 (1973) 475-476.
- [14] J. V. Visentainer, Analytical aspects of the flame ionization detector response of fatty acid esters in biodiesels and foods, *Quím. Nova* 35 (2012), 274-279.
- [15] R. Ayerza, Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72 (1995) 1079–1081.
- [16] M. L. Martinez, M. A. Marín, C. M. S. Faller, J. Revol, M.C. Penci, P.D. Ribotta, Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters, *LWT Food Sci. Technol.* 47 (2012) 78-82.
- [17] V. Dal Prá, J. F. Soares, D. L. Monego, R. G. Vendruscolo, D. M. G. Freire, M. Alexandri, A. Koutinas, R. Wagner, M. A. Mazutti, M. Barcellos, Extraction of bioactive compounds from palm (*Elaeis guineensis*) pressed fiber using different compressed, *J. Supercrit. Fluids* 112 (2016) 51-56.

- [18] V. Y. Ixtaina, A. Vega, S. M. Nolasco, M. C. Tomas, M. Gimeno, E. Barzana, A. Tecante, Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica L.*): Characterization and process optimization, *J. Supercrit. Fluids* 55 (2010) 192-199.
- [19] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, Dispõe sobre o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília.
- [20] E. Moretto, R. Fett, Definição de óleos e gorduras, tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos, São Paulo. Varela, 1998.
- [21] A. P. Simopoulos, The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids, *Biomed. Pharmacother.* 56 (2002) 365–379.
- [22] S. C. Sargi, B. C. Silva, H. M. Santos, P. F. Montanher, J. S. Boeing, O., O. Santos, N., E. Souza, J. V. Visentainer, Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla, *Food Sci. Technol.* 33 (2013) 541-548.
- [23] V.Y. Ixtaina, F. Mattea, D. A. Cardarelli, M. A. Mattea, S. M. Nolasco, M. C. Tomas, Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Characterization of Argentinean Chia Seed Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 88 (2011) 289-298.

4.2 MANUSCRITO 2

**QUALIDADE DO ÓLEO DE PERILLA (*Perilla frutescens*) EXTRAÍDO COM CO₂ E
GLP PRESSURIZADOS**

Gabrielle Scapin^{1*}, Ederson R. Abaide², Rafael F. Martins², Marcio A. Mazzuti², Raquel G. Vendruscolo¹, Roger Wagner¹, Claudia S. da Rosa¹.

*¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*²Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*Autor correspondente: Gabrielle Scapin (gabi_scapin@yahoo.com.br)

Telefone: +55 55 999454156

Resumo

O óleo de semente de perilla foi extraído com fluidos pressurizados variando a pressão e a temperatura, a fim de avaliar a influência destas no rendimento da extração, atividade antioxidante, ácidos graxos e fitoesteróis. Os pontos em que ocorreu maior rendimento foram 25 MPa/20 °C na extração com CO₂ pressurizado (31,80%) e 0,5 MPa/20 °C na extração com GLP pressurizado (42,29%). Nestes pontos, o óleo extraído com GLP teve atividade antioxidante em DPPH maior que o obtido com CO₂ (50,20 AA% e 46,44 AA% respectivamente). O perfil de ácidos graxos encontrado foi similar para dois fluidos utilizados, apresentando uma predominância de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ácido graxo α -linolênico. Ainda, foram quantificados compostos bioativos como esqualeno, α -tocoferol e β -sitosterol.

Palavras-chave: perilla, dióxido de carbono, gás liquefeito de petróleo, ácido α -linolênico, fitoesteróis.

1.Introdução

Perilla (*Perilla frutescens*) é uma planta nativa dos países asiáticos, usada na culinária e na medicina tradicional, no entanto, ainda permanece desconhecida para as populações ocidentais [1]. Suas sementes contém aproximadamente 35-45% de óleo, sendo boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados, especialmente ácido α -linolênico [2]. Além disso, a semente ainda possui fitoesteróis e tocoferóis. Estes componentes presentes na semente de perilla oferecem vários benefícios à saúde, tais como redução dos níveis de lipídios no plasma e prevenção de doenças cardiovasculares [3].

Os processos convencionais de extração de óleos utilizam solventes orgânicos (frios ou quentes) que podem ter impacto significativo nas características do óleo, na composição de ácidos graxos, vitaminas e antioxidantes [4]. Sendo assim, o uso de fluidos pressurizados parece ser um método bastante atraente, principalmente pela utilização de condições mais suaves de temperatura que causam menor degradação de compostos de interesse [5].

Fluidos como o propano e o n-butano, embora não tenham todas as qualidades do dióxido de carbono (CO₂), também se dissipam após descompressão, dispensando a etapa de evaporação do solvente, e tem poder de solvatação maior que o CO₂ na extração de muitas substâncias presentes em óleos e produtos naturais [6].

O gás liquefeito de petróleo (GLP), que contém n-butano e propano como componentes principais, aparece como um solvente interessante. Recentemente, Scapin et al. [7] relatou o uso de GLP comprimido na extração de óleo de semente de chia, mostrando bons resultados quanto ao rendimento de extração e à qualidade do extrato. Além disso, não foram encontrados documentos na literatura relatando seu uso para a extração de óleo de semente de perilla. Assim, o objetivo desta pesquisa foi extrair o óleo de semente perilla usando CO₂ e GLP comprimidos sob diferentes condições de pressão e temperatura, e avaliar a qualidade do óleo extraído através de sua atividade antioxidante, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e fitoesteróis.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras

As sementes de perilla foram adquiridas no comércio da cidade de Santa Maria-RS, Brasil, e tiveram procedência do município de Mogi das Cruzes- SP, Brasil. As sementes foram desidratadas em estufa com ar forçado a 55 °C por 24 horas, onde atingiram um teor de umidade de 4,03 g/100g. Após as mesmas trituradas utilizando um moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298^a21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10) por 1 min e acondicionadas em embalagem plástica escura a -4 °C até uso posterior, seguindo metodologia de Scapin et al. [7].

2.2 Composição química das sementes de perilla

Os teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram determinados de acordo com a metodologia da AOAC [8]. A determinação de fibras foi realizada pelo método enzimático (método 985.28) e carboidratos foram obtidos por diferença das demais frações.

2.3 Extração dos óleos de perilla

2.3.1 Extração por Soxhlet

O óleo de perilla foi extraído com n-hexano em Soxhlet a 80 °C durante 8 h [9] para comparar o rendimento das extrações envolvendo fluidos pressurizados e extração convencional.

2.3.2 Extração utilizando fluidos pressurizados (CO₂ e GLP)

Os experimentos foram realizados em um equipamento composto por um cilindro de solvente (CO₂ com 99,5% de pureza, procedente da Air Liquide, e GLP, (composto por uma mistura de propano (50,3%), n-butano (28,4%), isobutano (13,7%), etano (4,8%) e outros constituintes menores (metano, pentano, isopentano), procedente da Ultragás), uma célula extratora 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).

As extrações foram realizadas utilizando 5 g de amostras secas e moídas e o solvente (CO₂ ou GLP) foi bombeado para o leito e mantido em contato com a amostra durante 1 h para permitir a estabilização do sistema. Em seguida, o extrato foi recolhido ao abrir a válvula micrométrica. Os experimentos foram realizados temperatura e pressão constante. A vazão de CO₂ e GLP foi fixada em 4 g/min. Para o experimento com CO₂, a extração teve duração de 150 minutos, e para o GLP, 5 minutos. Foi utilizado um planejamento experimental com 2 níveis e 2 variáveis (2²) com triplicata no ponto central para a realização das extrações, conforme apresentado na Tabela 1. Foram também determinadas as curvas de extração, a partir dos valores de massa extraída acumulada em função do tempo.

Tabela 1: Planejamento experimental 2² com triplicata no ponto central

Experimento	CO ₂		GLP	
	P (MPa)	T(°C)	P (MPa)	T(°C)
1	10 (-1)	20 (-1)	0,5 (-1)	20 (-1)
2	25 (+1)	20 (-1)	2,5 (+1)	20 (-1)
3	10 (-1)	60 (+1)	0,5 (-1)	40 (+1)
4	25 (+1)	60 (+1)	2,5 (+1)	40 (+1)
5	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)
6	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)
7	17,5 (0)	40 (0)	1,5 (0)	30 (0)

Após as extrações, foi determinado o rendimento global (X_0) de óleo extraído, calculado como a razão entre a massa total de óleo extraído (m_e) e a massa inicial (m_i) de semente de perilla utilizada em cada extração (Eq. (1)) e a recuperação de óleo (R_0) foi determinada pela razão entre a massa total de óleo extraída (m_e) e a massa de óleo extraída por Soxhlet ($m_{soxhlet}$) (Eq. (2)).

$$X_0 = \left(\frac{m_e}{m_i} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$R_0 = \left(\frac{m_e}{m_{soxhlet}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Para a determinação da densidade de solvente (ρ_F) em condições específicas de temperatura e pressão foi utilizado o software Termopro, para CO₂, e dados para propano, n-butano, isobuteno e etano (componentes principais) para GLP, adquiridos em NIST [10]. A partir desses dados, foi calculado o volume específico para cada condição usando a fração de cada componente na mistura e a densidade obtida. Então, finalizou-se fazendo a conversão do volume específico da mistura para a densidade.

2.4 Determinação da atividade antioxidante dos óleos de perilla

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) utilizando metodologia descrita por Dal Prá et al. [11], onde as amostras de óleo de semente de perilla foram diluídas em etanol a uma concentração de $20 \text{ mg}_{\text{óleo}}/\text{mL}_{\text{etanol}}$, definida a partir de testes feitos previamente. Em seguida, 1500 μL da amostra diluída foram adicionadas a 1480 μL da solução de DPPH 0,1 mM e 20 μL de etanol. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra contendo 1500 μL da amostra diluída e 1500 μL de etanol, e um branco para o DPPH contendo 1480 μL de DPPH e 1520 μL 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 (Eq. (3)) foi calculada, onde A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH, A e A_{B} são as absorbâncias da amostra e branco, respectivamente.

$$AA_{\text{DPPH}} = \left(\frac{A_{\text{DPPH}} - (A - A_{\text{B}})}{A_{\text{DPPH}}} \right) \times 100 \quad (3)$$

2.5 Caracterização físico-química dos óleos de perilla

Nos pontos em que ocorreu maior rendimento nas extrações com CO_2 e GLP pressurizados foram determinados: Índice de acidez (método Cd 3d-63); Índice de iodo pelo método de Wijs (método Cd 1-25); Índice de peróxidos (método Cd 8-53); Índice de refração em refratômetro Abbé (método Cc 7-25), seguindo a metodologia da AOCS [12].

2.6 Perfil de ácidos graxos dos óleos de perilla

As amostras obtidas com CO_2 e GLP pressurizado (cerca de 100 mg) foram derivatizadas a ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) como descrito por Hartman e Lago [13]. FAMES foram analisados de acordo com Scapin et al. [7], utilizando um cromatógrafo de gás equipado com detector de ionização de chama (GC-FID), Varian, modelo Star 3400 CX, CA, EUA) e um amostrador automático (Varian, modelo 8200, CA, EUA). Os resultados foram expressos como porcentagem de ácidos graxos utilizando padrão

interno de tricosanoato de metil (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) de massa conhecida e os fatores de correção do FID [14].

2.7 Determinação de fitoesteróis nos óleos perilla

O mesmo procedimento analítico para a preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi utilizado para fitoesteróis. Os compostos α -tocoferol, β -sitosterol e esqualeno foram analisados de acordo com o método de Scapin et al. [7]. A determinação de sua concentração foi realizada por calibração externa usando um cromatógrafo de gás equipado com detector de ionização de chama (GC-FID - Varian - modelo Star 3400 CA, EUA) e amostrador automático (Varian - modelo 8100 - CA, EUA). As análises qualitativas foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (GC / MS, Shimadzu QP-2010-Plus, Tóquio, Japão).

2.8 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o software STATISTICA® 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK 74104, EUA) avaliando os efeitos das variáveis independentes (pressão e temperatura) sobre as variáveis respostas (rendimento da extração, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos e fitoesteróis) no processo de extração com CO₂ e GLP pressurizados, considerando 95% de nível de confiança para todas as variáveis.

3. Resultados

3.1 Composição química das sementes de perilla

O teor de umidade encontrado nas sementes de perilla foi de 6,15 g/100g, valor bastante semelhante à pesquisa de Sargi et al. [15] onde foram verificados valores de 6,40 g/100g.

Para proteína, foram verificados 24,60 g/100g, valor muito semelhante ao encontrado por Silva, Garcia e Zanette [16], que relataram um teor de proteína de 24,30 g/100g. Silva, Garcia e Zanette [16] ainda encontraram 40,06 g/100g de lipídios, valor inferior ao encontrado neste estudo (42,53 g/100g) para as sementes. Segundo Longvah e Deosthale [17]

o teor de lipídios nas sementes de perilla pode chegar a 51 g/100g, sendo estes constituídos predominantemente por ácidos graxos poli-insaturados.

O teor de fibras totais encontrado para perilla também foi elevado (20,12 g/100g), porém inferior ao encontrado por Silva, Garcia e Zanette [16] que verificaram valores de 24,04 g/100g. Por outro lado, os valores de cinzas (5,37 g/100g) em perilla foram superiores aos relatados em estudo de Silva, Garcia e Zanette [16] que encontraram 4,48 g/100g.

3.2 Extrações do óleo de perilla

Os rendimentos e recuperação do óleo de semente de perilla nas diferentes condições de pressão e temperatura utilizando CO₂ e GLP pressurizados como solventes estão apresentados na Tabela 2.

Nas extrações com CO₂, observou-se que o maior rendimento (31,80%) e o maior percentual de recuperação do óleo (74,78%) foram obtidos na condição de 25 MPa/20 °C. Por outro lado, o menor rendimento (<0,1%) e recuperação (<0,235%) foram obtidos na condição 10 MPa/60 °C.

Ainda, o aumento da pressão, a uma temperatura constante, causou um aumento no rendimento da extração, como pode ser observado à temperatura de 20 °C, onde a mudança na pressão de 10 MPa para 25 MPa aumentou o rendimento da extração de 19,15% para 31,80% e à temperatura de 60 °C, onde o aumento na pressão de 10 MPa para 25 MPa elevou o rendimento de <0,1% para 27,83%. Isso pode ser explicado pelo aumento na densidade e no poder de solvatação do solvente, aumentando a solubilidade do óleo.

Tabela 2: Rendimento e recuperação de óleo de semente de perilla obtidos por extração com fluidos pressurizados, variando pressão e temperatura.

Experimento	Solvente	P(MPa)	T (°C)	$\rho_F(\text{g/cm}^3)$	t(min)	Rendimento(%)	Recuperação(%)
1	CO ₂	10	20	0,83	150	19,15	45,02
2	CO ₂	25	20	0,99	150	31,80	74,78
3	CO ₂	10	60	0,29	150	<0,1	<0,23
4	CO ₂	25	60	0,77	150	27,83	65,45
5	CO ₂	17,5	40	0,79	150	19,04±0,99	44,77±2,34
1	GLP	0,5	20	0,121	5	42,29	99,43
2	GLP	2,5	20	0,343	5	39,75	93,47
3	GLP	0,5	40	0,051	5	<0,1	<0,23
4	GLP	2,5	40	0,314	5	39,20	92,18
5	GLP	1,5	30	0,241	5	41,70±0,60	98,06±1,41
Soxhlet	n-hexano	-	ebulição	-	480	42,53	100

O experimento 5 corresponde a média±desvio padrão da triplicata do ponto central

Por outro lado, a temperatura de extração influencia na densidade do solvente e na pressão de vapor do soluto, dependendo da intensidade da pressão de operação. Observou-se que à pressão de 10 MPa, o aumento na temperatura de 20 para 60 °C, levou a uma alta redução no rendimento de óleo. Isso ocorre devido à redução na densidade do solvente com o aumento da temperatura, que diminui a solubilidade do óleo no CO₂.

Nas extrações com GLP (Tabela 2) o maior rendimento (42,29%) e o maior percentual de recuperação do óleo (99,43%) foi obtido na condição de 0,5 MPa/20 °C. Observou-se que, à pressão de 0,5 MPa, um aumento na temperatura de 20°C para 40°C causou grande redução no rendimento de óleo. Isso ocorreu devido ao aumento da pressão de vapor dos compostos do extrato e também dos componentes do GPL com o aumento da temperatura, o que diminui a densidade e o poder de solvatação [11].

Os resultados encontrados foram superiores aos de Silva et al. [18] que relataram rendimentos de 33 a 34% na extração de óleo de perilla utilizando n-propano comprimido, e 40% de rendimento na extração convencional por solventes.

Observou-se que as extrações de óleo de perilla utilizando GLP pressurizado apresentaram rendimentos mais elevados em tempos extremamente reduzidos, se comparadas às extrações com CO₂ pressurizado.

Os resultados da influência da pressão e da temperatura no processo de extração com CO₂ e GLP estão apresentados na Tabela 3. Para ambos os solventes, a interação entre as duas variáveis (pressão e temperatura) foram significativas ($p < 0,05$) e positivas. O efeito isolado da pressão no rendimento de óleo também foi significativo ($p < 0,05$) e positivo, enquanto a temperatura também teve efeito significativo ($p < 0,05$), porém negativo. Observa-se que na extração com CO₂ o efeito mais pronunciado foi o efeito positivo da pressão, enquanto na extração com GLP foi o efeito negativo da temperatura.

Abaide et al. [19] também relatou efeito significativo da pressão na extração de óleo de abacate utilizando CO₂ supercrítico como solvente, onde o aumento da pressão de 15 a 25 MPa elevou consideravelmente o rendimento de óleo.

Tabela 3: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) no rendimento da extração de óleo de perilla com fluidos pressurizados

	CO ₂			GLP		
	Efeito	Erro padrão	p	Efeito	Erro padrão	p
Média/Interação	19,436	0,377	<0,001*	35,211	0,227	<0,001*
(1) Pressão	20,197	0,997	0,002*	18,288	0,602	0,001*
(2) Temperatura	-11,510	0,997	0,007*	-21,370	0,602	<0,001*
1X2	7,540	0,997	0,017*	20,820	0,602	<0,001*

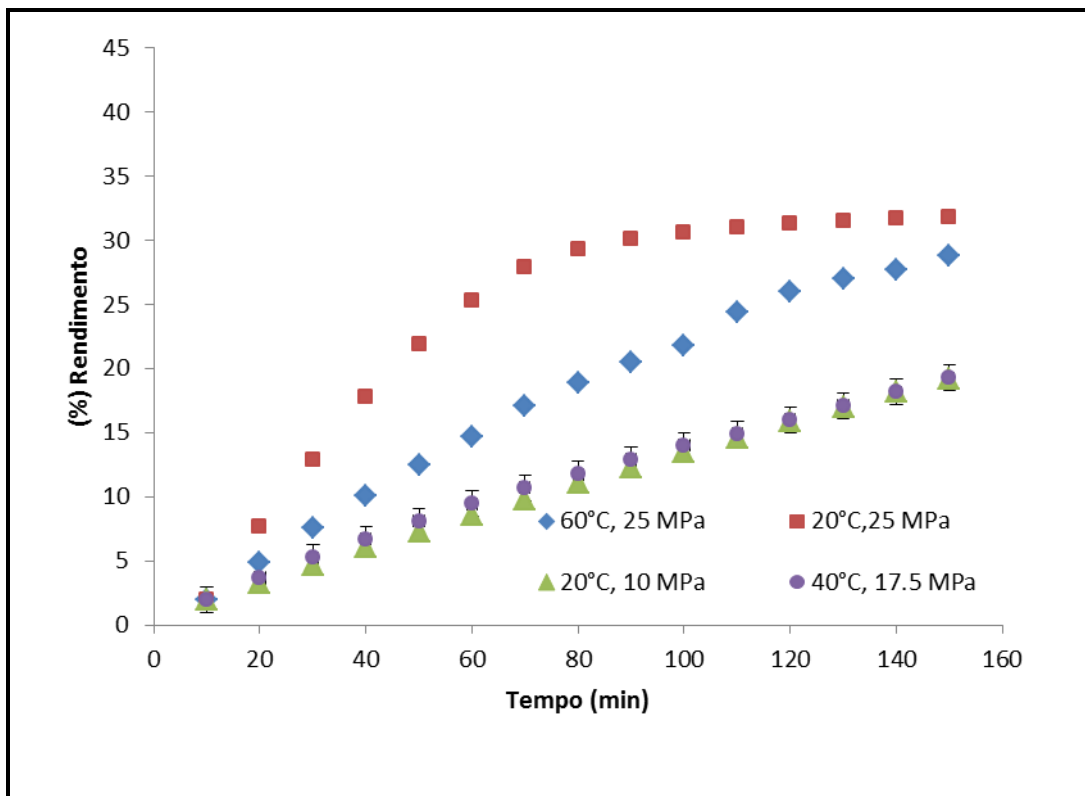
[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Soares et al. [20] utilizando GLP comprimido na extração de óleo de farelo de arroz, verificaram que o aumento da pressão e da temperatura mostrou uma tendência em melhorar o rendimento das extrações, quando foram alteradas as condições de extração de 0,5 MPa/20 °C (9,99% de rendimento) para 1,5 MPa/30 °C (11,7% de rendimento) ou 2,5 MPa/40 °C (12,07 % de rendimento). Resultados semelhantes com efeito significativo e negativo para a temperatura na extração foram relatados por Dal Prá et al. [11] na extração de óleo de palma com GLP comprimido.

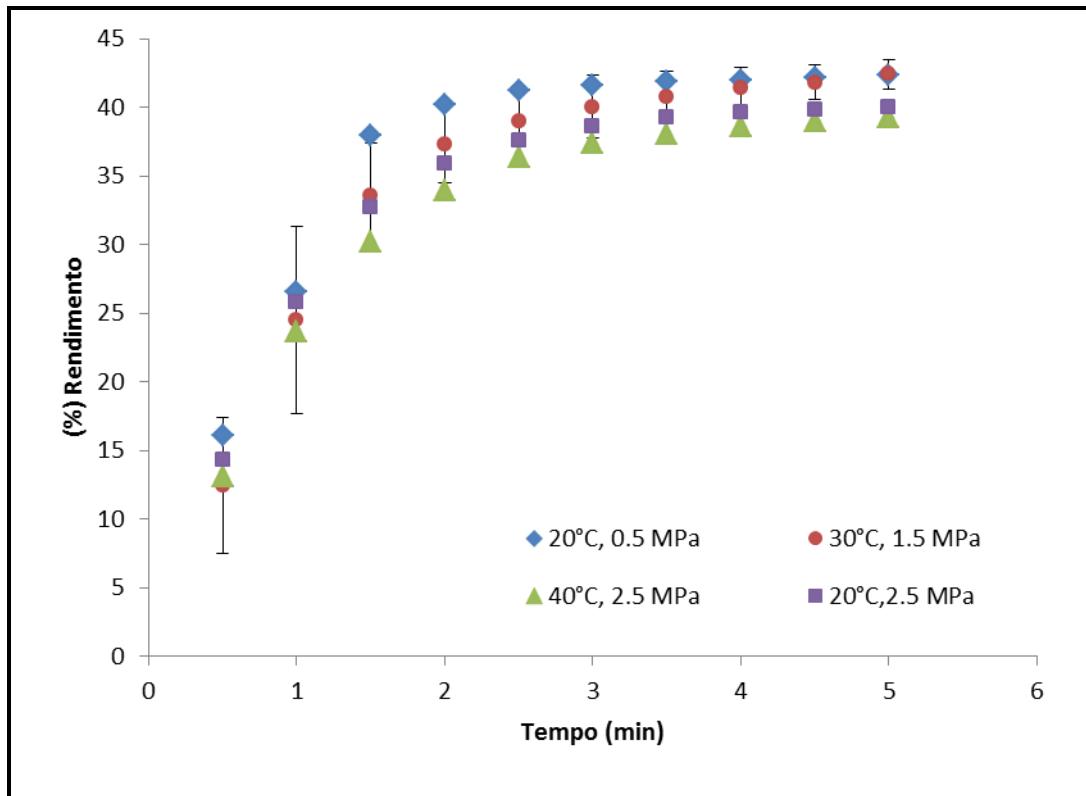
Silva et al. [18] ao extraírem óleo de semente de perilla utilizando n-propano comprimido como solvente, não encontraram efeito significativo de pressão, temperatura, ou interação entre as duas no rendimento da extração, utilizando pressões de 8-16 MPa e temperaturas de 40-80 °C por 80 minutos. Por outro lado, Novello et al. [21] descreveram uma redução no rendimento da extração de óleo de andiroba de 17,8 para 13,1% quando alteradas as condições de extração com n-butano comprimido de 0,7 MPa/25 °C para 1 MPa/35 °C mostrando que a pressão e temperatura tiveram influência negativa na extração.

Na Figura 1 pode ser observado o comportamento das extrações do óleo de perilla com CO₂ e GLP pressurizados. Observa-se, na Figura 1A, que durante toda a extração com CO₂, e ao fim dos 150 minutos de extração, a condição de 25 MPa/20 °C obteve um rendimento máximo, ou seja, a taxa de extração nesta condição foi significativamente maior. Já nas extrações com GLP (Figura 1B) observou-se que nos primeiros instantes da extração, todas as condições apresentaram um comportamento semelhante. Próximo a 2 minutos de extração, a condição de 0,5 MPa/20 °C começou a apresentar um rendimento superior as demais, comportamento que seguiu até o final dos 5 minutos de extração.

Figura 1: Curva cinética da extração de óleo de perilla com CO₂ (A) e GLP (B)



(A)



(B)

3.3 Caracterização dos pontos ótimos de óleo de perilla

A Tabela 4 mostra os resultados encontrados para índice de acidez, índice de iodo, peróxidos e índice de refração dos pontos ótimos (maior rendimento) dos óleos de perilla extraídos com CO₂ e GLP pressurizados. Para extração do óleo de perilla com CO₂, o ponto ótimo foi 25 MPa/20 °C e para GLP foi 0,5 MPa/20 °C.

Tabela 4: Caracterização físico-química dos pontos ótimos do óleo de perilla

Extração	Índice de acidez (mg KOH/g)	Índice de Iodo (g I ₂ /100g)	Peróxidos (mEq O ₂ /Kg)	Índice de refração
CO ₂	1,74 ^b ±0,12	179,06 ^a ±0,95	1,31 ^b ±0,13	1,49 ^a ±<0,01
GLP	1,87 ^{ab} ±0,14	155,83 ^c ±0,93	1,03 ^c ±0,12	1,49 ^a ±<0,01
Soxhlet	2,13 ^a ±0,14	169,70 ^b ±1,47	1,65 ^a ±0,04	1,49 ^a ±<0,01

Os valores expressos como média ± desvio padrão com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Óleos vegetais não refinados podem apresentar índice de acidez de até 4 mg KOH/g e índice de peróxidos de 15 mEq O₂/kg, segundo RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA [22].

De acordo com a Tabela 4, foram encontrados valores de 1,74 e 1,87 mg KOH/g para o índice de acidez do óleo de perilla extraído por CO₂ e GLP, respectivamente, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre os dois solventes. Os resultados foram mais elevados que os encontrados por Li et al. [23], que mostraram índice de acidez de 0,77 mg KOH/g para óleo de perilla extraído com n-hexano assistido por ultrassom. No entanto, a amostra extraída por Soxhlet apresentou índice de acidez maior (2,13 mg KOH/g) mostrando que nas extrações com fluidos pressurizados houve preservação da qualidade do óleo.

Os valores de peróxidos do óleo de perilla ficaram entre 1,03 e 1,31 mEq O₂/kg, para as amostras de óleo extraídas com GLP e CO₂ respectivamente. Estes valores foram inferiores aos encontrados por Li et al. [23] (1,70 mEq O₂/kg). O índice de peróxido é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras. Valores baixos de peróxidos podem indicar a presença de compostos antioxidantes no óleo de semente de perilla.

O Índice de iodo relaciona-se com a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados presentes na amostra [24]. Li et al. [23] encontraram valores de índice de iodo de 176,78 g I₂/100g, valores semelhantes ao encontrados neste estudo, que foram de 179,06 e 155,83 I₂/100g, para o óleo de perilla extraído por CO₂ e GLP respectivamente, apresentando diferença significativa entre as duas amostras ($p < 0,05$).

O índice de refração para os óleos de perilla extraídos com os dois fluidos não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si, e estão em concordância com Li et al. [23] que encontraram índice de refração de 1,482 para o óleo de perilla extraído com n-hexano assistido por ultrassom.

3.4 Atividade antioxidante dos óleos de perilla

A Tabela 5 apresenta a atividade antioxidante dos óleos de perilla, obtidos nas diferentes condições de extração utilizando CO₂ e GLP pressurizados na concentração de 20 mg/mL, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH. Para as extrações com CO₂, a condição de menor atividade antioxidante em DPPH foi a 25 MPa/20 °C (46,44 AA%), enquanto que a que apresentou maior potencial antioxidante foi a 17,5 MPa/40 °C (92,03 AA%). Nas extrações com GLP a condição de 2,5 MPa/40 °C obteve a maior

atividade antioxidante em DPPH (59,17 AA%). As condições 10 MPa/60 °C (extração com CO₂) e 0,5 MPa/40 °C (extração com GLP) por apresentarem um rendimento muito baixo, não obtiveram quantidade de amostra suficiente para realização da técnica de atividade antioxidante.

Tabela 5: Atividade antioxidante dos óleos de perilla obtidos por fluidos pressurizados, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

Experimento	Solvente	P(Mpa)	T (°C)	AA%
1	CO ₂	10	20	74,28±0,14 ^c
2	CO ₂	25	20	46,44±0,12 ^d
3	CO ₂	10	60	Não analisada
4	CO ₂	25	60	85,84±0,17 ^b
5	CO ₂	17,5	40	92,03±0,09 ^a
1	GLP	0,5	20	50,20±0,06 ^c
2	GLP	2,5	20	50,59±0,06 ^b
3	GLP	0,5	40	Não analisada
4	GLP	2,5	40	59,17±0,16 ^a
5	GLP	1,5	30	50,32±0,13 ^{bc}

Os valores expressos como média ± desvio padrão com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Análises realizadas em triplicata

O experimento 5 corresponde a média±desvio padrão da triplicata do ponto central

A Tabela 6 mostra o efeito das variáveis estudadas na porcentagem de atividade antioxidante (AA%) dos óleos de perilla extraídos com CO₂ e GLP. Para as extrações com CO₂ pressurizado houve efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo da interação entre pressão e temperatura, mostrando que quanto menores as pressões e temperaturas maior a atividade antioxidante. A pressão, isoladamente, apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo, enquanto a temperatura apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo.

Por outro lado, nas extrações com GLP (Tabela 6) houve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo de interação entre pressão e temperatura, mostrando que o aumento na pressão e na

temperatura leva a um aumento na porcentagem de atividade antioxidante do óleo extraído com GLP pressurizado. Quanto analisadas separadamente, a pressão teve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo, e a temperatura não teve efeito significativo ($p > 0,05$).

Tabela 6: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na atividade antioxidante do óleo de perilla extraído com fluidos pressurizados

	CO ₂			GLP		
	Efeito	Erro padrão	p	Efeito	Erro padrão	p
Média/Interação	92,036	0,056	<0,001*	50,320	0,007	<0,001*
(1) Pressão	-51,793	0,177	<0,001*	9,320	0,237	0,000*
(2) Temperatura	63,333	0,177	<0,001*	-0,250	0,237	0,402
1X2	-23,713	0,177	<0,001*	8,930	0,237	<0,001*

[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Analisando o óleo de perilla extraído com os dois fluidos pressurizados, pode-se observar que a extração com CO₂ apresentou óleos com maior atividade antioxidante. No entanto, nos pontos ótimos de rendimento para as duas extrações, observou-se que os resultados de atividade antioxidante em DPPH foram maiores para a extração com GLP do que com CO₂ (50,20 e 46,44%, respectivamente), na concentração de 20 mg /mL.

Capeletto et al. [25] analisaram a atividade antioxidante em DPPH de extratos de semente de guavirova obtidos por extração com CO₂ supercrítico (25 MPa/40 °C) e n-butano comprimido (1 MPa/35 °C). Os resultados indicaram que houve uma capacidade de inibição do radical DPPH bastante similar entre os dois tipos de extração, não apresentando diferença significativa. No entanto, na concentração de 20 mg/mL, os resultados encontrados ficaram em torno de 20 % AA em DPPH, valor bastante inferior ao encontrado para os óleos de semente de perilla obtidos neste estudo, na mesma concentração.

3.5 Perfil de ácidos graxos e fitoesteróis dos óleos de perilla extraídos com CO₂ e GLP pressurizados

Para os óleos extraídos com CO₂ (Tabela 7) foi possível identificar 17 ácidos graxos diferentes, onde o ácido graxo majoritário foi o linolênico (C18:3n3), chegando a 62,80 % do total extraído, seguido do linoléico (C18:2n6c) e do oléico (C18:1n9). Entre os saturados, o ácido graxo majoritário foi o palmítico (C16:0).

A razão n6/n3 variou de 0,22 (25 MPa/20 °C, condição 2) a 0,27 (25 MPa/60 °C, condição 4). Os ácidos graxos ômega-3 são essenciais para os seres humanos e suas propriedades benéficas são geralmente atribuídas a proporção n6:n3 [26]. Os ácidos graxos de perilla estão entre óleos que oferecem menor quantidade de n6 do que de n3, podendo ser utilizado como fonte de ácido graxo α -linolênico para enriquecer a dieta, e conseqüentemente, reduzir a razão n6/n3 da mesma.

A razão poli-insaturados/saturados (PUFA/SFA) variou de 6,23 a 8,69 onde o maior valor foi obtido condição 25 MPa/20 °C (condição 2), mostrando que com maiores pressões e menores temperaturas houve maior extração de compostos poli-insaturados em relação a saturados.

Da mesma forma, Sargi et al. [15] estudaram o perfil de ácidos graxos de óleo de perilla extraídos pelo método de Bligh & Dyer (1959), onde foi possível a identificação e quantificação de 9 ácidos graxos. Entre eles, os majoritários foram o ácido graxo linolênico (539,07 mg/g), ácido linoléico (139,04 mg/g) e ácido oléico (115,02 mg/g). Entre os saturados, foram identificados o palmítico (63,33 mg/g) e esteárico (15,59 mg/g). Ainda, a razão n6/n3 do óleo de perilla foi de 0,26, valor próximo ao encontrado neste estudo.

Tabela 7: Perfil de ácidos graxos (%) e fitoesteróis (mg /100g) do óleo de perilla extraído com fluidos pressurizados

	CO ₂				GLP			
	1	2	4	5	1	2	4	5
C14:0	0,04	0,03	0,03	0,03±<0,01	0,02	0,02	0,02	0,02±<0,01
C15:0	0,01	0,01	0,01	0,01±<0,01	0,01	0,01	0,01	0,01±<0,01
C16:0	8,57	7,00	8,82	8,80±0,82	7,27	7,34	7,30	7,08±0,32
C16:1	0,12	0,11	0,12	0,12±<0,01	0,10	0,10	0,10	0,10±<0,01
C17:0	0,04	0,03	0,05	0,04±<0,01	0,04	0,04	0,04	0,04±<0,01
C18:0	2,06	1,61	2,30	2,12±0,25	2,33	2,35	2,31	2,23±0,09
C18:1n9c	14,11	12,02	14,94	14,21±1,10	15,37	15,04	15,18	15,70±0,60
C18:2n6c	15,10	14,34	15,19	15,09±0,24	14,93	14,77	14,97	14,91±0,13
C18:3n6	0,13	0,11	0,14	0,13±0,02	0,14	0,14	0,14	0,15±0,01
C18:3n3	57,66	62,80	56,19	58,00±1,67	57,22	57,03	57,55	57,24±0,87
C20:0	0,14	0,10	0,19	0,19±0,01	0,19	0,19	0,18	0,18±0,01
C20:1	0,11	0,09	0,13	0,11±<0,01	0,16	0,16	0,16	0,15±<0,01
C20:2	0,03	0,03	0,04	0,04±0,01	0,05	0,04	0,04	0,05±0,01
C21:0	0,03	0,03	0,03	0,03±<0,01	0,04	0,04	0,04	0,04±<0,01
C20:5n3	0,03	0,03	0,04	0,03±<0,01	0,04	0,04	0,04	0,04±<0,01
C22:0	0,02	0,01	0,02	0,01±<0,01	0,02	0,02	0,02	0,01±<0,01
C24:0	0,01	0,05	0,04	0,02±<0,01	0,03	0,03	0,03	0,02±<0,01
SFA	10,94	8,89	11,49	11,30±1,07	9,97	10,05	9,96	9,65±0,43
MUFA	14,35	12,22	15,18	14,45±1,12	15,63	15,30	15,44	15,96±0,60
PUFA	72,94	77,30	71,59	73,31±1,39	72,37	72,02	72,75	72,41±0,97
n6/n3	0,26	0,22	0,27	0,26±0,01	0,26	0,26	0,26	0,26±<0,01
PUFA/SFA	6,66	8,69	6,23	6,53±0,70	7,26	7,16	7,30	7,50±0,42
esqualeno	4,57	3,48	6,12	0,87±0,14	0,62	0,54	6,04	3,91±0,37
α-tocoferol	12,48	8,42	6,60	nd	4,65	nd	7,20	7,23±1,12

β -sitosterol 72,61 62,34 56,32 19,98 \pm 2,08 12,72 16,83 38,63 44,88 \pm 6,63

Condições para CO₂: 1 (10 MPa / 20 °C); 2 (25 MPa / 20 °C); 4 (25 MPa / 60 °C); 5 (17,5 MPa / 40 °C).

Condições para o GPL: 1 (0,5 MPa / 20 °C); 2 (2,5 MPa / 20 °C); 4 (2,5 MPa / 40 °C); 5 (1,5 MPa / 30 °C).

O experimento 5 corresponde à média \pm desvio padrão da triplicata do ponto central

SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados

nd: não detectado

Os resultados encontrados foram superiores a Siriamornpun et al. [27] que ao avaliarem o perfil de ácidos graxos de sementes de perilla de três localidades da Tailândia encontraram predominância de ácidos graxos poli-insaturados linoléico e linolênico (12 a 22% e 54 a 59%, respectivamente).

Li et al. [23] obtiveram óleo de semente de perilla pela extração com hexano assistida por ultrassom e também relataram como componente majoritário o ácido linolênico (61%), seguido do oléico (16%) e do linoléico (14%), perfazendo aproximadamente 91% do total de ácidos graxos de semente de perilla. Ainda, a razão poli-insaturados/saturados obtida foi de 10,91, mostrando a predominância de ácidos graxos poli-insaturados em relação a saturados neste óleo.

Ciftci, Przybylski e Rudzinska [28] avaliaram o perfil lipídico de óleo de semente de perilla extraída pelo método de Folch, Less e Stanley (1957). O estudo quantificou 16 ácidos graxos e relatou que 7,5% dos ácidos graxos de semente de perilla são saturados, 16,5% são monoinsaturados e 75,8% são poli-insaturados, valores próximos aos encontrados no presente estudo.

Para os óleos extraídos com GLP (Tabela 7) o ácido graxo majoritário foi o linolênico (C18:3n3) seguido do oléico (C18:1n9) e do linoléico (C18:2n6c). Entre os saturados, o ácido graxo majoritário foi o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0).

Para a razão n6/n3 todas as amostras apresentaram valor de 0,26. Os resultados evidenciam, novamente, que os ácidos graxos de perilla estão entre óleos que oferecem menor quantidade de n6 do que de n3. A razão polinsaturados/saturados (PUFA/SFA) variou de 7,16 a 7,50, onde o maior valor foi obtido na condição 1,5 MPa/30 °C (condição 5).

Estatisticamente não foi possível estabelecer relações ($p > 0,05$) para o efeito de pressão, temperatura, e interação entre pressão e temperatura (dentro da faixa estudada) nos valores de ácidos graxos encontrados para os óleos de chia extraídos com CO₂ e GLP pressurizados. Isso mostra que qualquer condição do planejamento experimental levou a resultados similares no perfil de ácidos graxos.

Diferindo destes resultados, Silva et al. [18] ao avaliarem a influência da pressão (8-16 MPa) e temperatura (40-80 °C) na extração com n-propano, sobre a composição de ácidos graxos em sementes de perilla relataram haver influência significativa de ambos os fatores no rendimento dos ácidos graxos, onde o aumento da pressão e temperatura permitiu maior extração de ácidos graxos poli-insaturados, e uma melhor proporção entre poli-insaturados e saturados.

Os resultados encontrados para a quantificação de esqualeno, α -tocoferol e β -sitosterol nos óleos de perilla extraídos com CO₂ e GLP variando as condições de pressão e temperatura estão apresentados na Tabela 7.

Em relação aos óleos extraídos com CO₂ foi possível identificar esqualeno e os valores variaram de 0,87 mg/100g (17,5 MPa/40 °C, ponto central) a 6,12 mg/100g (25 MPa/60 °C, condição 4). Foi possível a identificação de α -tocoferol em somente três amostras e os valores variaram de 6,60 a 12,48 mg/100g, onde a condição 1 (10 MPa/20 °C) apresentou o maior valor. Para β -sitosterol, os valores variaram de 19,98 mg/100g (17,5 MPa/40 °C, ponto central) a 72,61 mg/100g (10 MPa/20°C, condição 1).

Nas extrações de óleo de perilla utilizando GLP (Tabela 7) também foi possível identificar esqualeno e os valores variaram de 0,54 mg/100g (2,5 MPa/20 °C, condição 2) a 6,04 mg/100g (2,5 MPa/40 °C, condição 4). O composto α -tocoferol não foi identificado em todas as amostras, e os valores variaram de 4,65 a 7,23 mg/100g, onde a condição de 1,5 MPa/30 °C (ponto central) apresentou o maior valor. Para β -sitosterol, identificado em todas as amostras, os valores variaram de 12,72 mg/100g (0,5 MPa/20 °C, condição 1) a 44,88 mg/100g (ponto central).

Ciftci, Przybylski e Rudzinska [28] avaliaram tocoferóis por HPLC e fitoesteróis por CG em óleo de semente de perilla. Foram verificados 2,1 mg/100g do composto α -tocoferol, valor inferior aos encontrados no presente estudo, tanto para CO₂ como para GLP. Para fitoesteróis, o composto majoritário foi o β -sitosterol, apresentando 337 mg/100g, valores superiores aos encontrados neste estudo.

Um et al. [29] avaliaram o perfil de fitoesteróis e tocoferóis por CG de óleos de semente de perilla de diferentes variedades e relataram valores médios de 4,29 mg/100g para esqualeno e 46,2 mg/100g para β -sitosterol. O α -tocoferol apresentou valor de 0,8 mg/100g, inferior ao encontrado neste trabalho. Da mesma forma, Li et al. [23] reportaram valores de 318,6 mg/100g de β -sitosterol, superior ao encontrado neste estudo.

A Tabela 8 mostra a influência da pressão e da temperatura na quantificação de compostos bioativos nos óleos de semente de perilla obtidos nas extrações com CO₂ e GLP

pressurizados. Para as extrações com CO₂ como solvente, pode-se observar que houve efeito significativo ($p < 0,05$) de interação entre a pressão e temperatura. Isso demonstra que os maiores valores obtidos tanto para esqualeno como para β -sitosterol são obtidos quando se utilizou maiores pressões e temperaturas no processo de extração. Quando analisadas separadamente, a pressão teve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo, enquanto a temperatura teve efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo.

Tabela 8: Efeito das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na variável esqualeno e β -sitosterol dos óleos de perilla extraídos com fluidos pressurizados

	Esqualeno			β -sitosterol		
	CO ₂					
	Efeitos	Erro Padrão	p	Efeitos	Erro Padrão	p
Média/Interação	0,878	0,085	0,009*	19,994	1,206	0,003
(1) Pressão	7,847	0,268	0,001*	78,677	3,815	0,002*
(2) Temperatura	-6,303	0,268	0,001*	-94,971	3,815	0,001*
1X2	8,942	0,268	<0,001*	88,944	3,815	0,001*
	GLP					
	Efeitos	Erro Padrão	p	Efeitos	Erro Padrão	p
Média/Interação	3,911	0,216	0,003*	44,884	3,829	0,007*
(1) Pressão	-1,235	0,684	0,212	-34,306	12,109	0,105
(2) Temperatura	6,654	0,684	0,010*	60,208	12,109	0,038*
1X2	-1,158	0,684	0,232	-38,408	12,109	0,086

[*] Houve efeito significativo considerando significância de 95%.

Já para as extrações utilizando GLP como solvente pode-se observar que houve efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo da temperatura, isoladamente. Isso demonstra que os maiores valores obtidos para esqualeno e β -sitosterol são obtidos quando se usou maiores temperaturas no processo de extração com GLP comprimido.

Não foi possível estabelecer a influência estatística significativa da pressão e temperatura na variável α -tocoferol nos dois fluidos estudados.

Silva et al. [18] extraíram óleo de semente de perilla com n-propano variando pressão (8-16 MPa) e temperatura (40-80 °C) a fim de avaliar a influência destas na composição de fitoesteróis e tocoferóis do óleo. Os resultados mostraram que não foi possível identificar α -tocoferol nas amostras estudadas e β -sitosterol apresentou um valor máximo de 171,5 mg/100g e 165,58 mg/100g, nas condições 8 Mpa/80 °C e 16 Mpa/80 °C, respectivamente sugerindo que maiores teores foram encontradas em condições de maior temperatura, independente da pressão utilizada, concordando com os dados obtidos no presente estudo.

4. Conclusões

Para as extrações de óleo de perilla com CO₂ houve influência positiva da pressão, onde o maior rendimento (31,80%) foi obtido na condição de 25 MPa/20 °C. Por outro lado, nas extrações GLP houve influência negativa da temperatura e a condição 0,5 MPa/20 °C foi a que apresentou maior rendimento (42,29%). Nestas condições de extração, a atividade antioxidante foi maior para os óleos extraídos com GLP comprimido.

A caracterização físico-química do óleo de perilla extraído pelos dois fluidos pressurizados mostrou que os óleos obtidos estão dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação.

O perfil de ácidos graxos dos óleos extraídos pelos dois fluidos pressurizados nas diferentes condições de pressão e temperatura foi bastante similar, onde o ácido graxo α -linolênico foi componente principal em todas as condições de extração.

Dessa forma, pode-se dizer que o GLP comprimido foi um solvente eficiente na extração dos óleos de perilla devido a altos rendimentos em tempos extremamente reduzidos e atividades antioxidantes superiores nas condições de maior rendimento. Entretanto, os dois fluidos foram ótimos para extração de óleos com altas quantidades de ácido α -linolênico e compostos bioativos envolvidos na prevenção de doenças cardiovasculares, podendo ter grande potencial dentro da indústria de alimentos para elaboração de produtos com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos de doutorado ao primeiro autor.

Referências

- [1] E. M. Kurowska, G. Dresser, L. Deutsch, D. Vachon, W. Kahlil, Bioavailability of omega-3essential fatty acids from perilla seed oil, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 68 (2003) 207-212.
- [2] H. K. Kim, S. Choi, H. Choi, Suppression of hepatic fatty acid synthase by feeding α -linolenic acid rich perilla oil lowers plasma triacylglycerol level in rats, *J. Nutr. Biochem.* 15 (2004) 485–492.
- [3] J. K. Kim, S. Park, J. K. Na, E. O. Seong, C. Y. Yu, Metabolite profiling based on lipophilic compounds for quality assessment of Perilla (*Perilla frutescens*) cultivars, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 2257–2263.
- [4] E. G. Hammond, L. A. Johnson, C. Su, T. Wang, P. J. White, Soybean oil. In:Shahidi, F. (Ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. John Wiley and Sons, New Jersey, 2005.
- [5] V. A. S. Garcia, V. F. Cabral, E. F. Zanoelo, C. Silva, L. Cardozo-Filho, Extraction of Mucuna Seed Oil Using Supercritical Carbon Dioxide to Increase the Concentration of L-Dopa in the Defatted Meal, *J. Supercrit. Fluids* 69 (2012) 75-81.
- [6] L. S. Freitas, Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos, Tese de Doutorado, Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2007.
- [7] G. Scapin, E. R. Abaide, L. F. Nunes, M. A. Mazutti, R. G. Vendruscolo, R. Wagner, C. S. Rosa, Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressureized fluids, *J. Supercrit. Fluids* 127 (2017) 90-96.
- [8] AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists, 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- [9] IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates. 7th ed, Blackwell Scientific Publications Inc., Oxford, England, 1992.

- [10] NIST. National Institute of Standards and Technology - Thermophysical properties of fluids. Accessed in: 02 august 2017, Available in: <http://www.webbook.nist.gov/chemistry/fluid>.
- [11] V. Dal Prá, J. F. Soares, D. L. Monego, R. G. Vendruscolo, D. M. G. Freire, M. Alexandri, A. Koutinas, R. Wagner, M. A. Mazutti, M. Barcellos, Extraction of bioactive compounds from palm (*Elaeis guineensis*) pressed fiber using different compressed, J. Supercrit. Fluids 112 (2016) 51-56.
- [12] AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Washington, 2004.
- [13] L. Hartman, R.C.A. Lago, Rapid preparation of fatty acids methyl esters, Lab Pract. 22 (1973) 475-476.
- [14] J.V. Visentainer, Analytical aspects of the flame ionization detector response of fatty acid esters in biodiesels and foods, Quím. Nova 35 (2012), 274-279.
- [15] S. C. Sargi, B. C. Silva, H. M. Santos, P. F. Montanher, J. S. Boeing, O. Santos, N. E. Souza, J. V. Visentainer, Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla, Food Sci. Technol. 33 (2013) 541-548.
- [16] C. Silva, V. A. S. Garcia, C. M. Zanette, Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using different organic solvents: oil yield, fatty acids profile and technological analysis of defatted meal, Int. Food Res. J. 23 (2016) 998-1004.
- [17] T. Longvah, Y. G. Deosthale, Chemical and nutritional studies on Hanshi (*Perilla frutescens*), a traditional oilseed from Northeast India, J. Am. Oil Chem. Soc. 68 (1991) 781-784.
- [18] C. M. Silva, A. B. Zanquia, A. K. Goharab, A. H. P. Souza, L. Cardozo-filho, J. V. Visentainer, L. U. R. Chiavellia, P. R. S. Bittencourtd, E. A. Silva, M. Matsushita, Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*), J. Supercrit. Fluids 102 (2015) 1-8.

- [19] E. R. Abaide, G. L. Zobot, M. V. Tres, R. F. Martins, J. L. Fernandez, L. F. Nunes, S. Druzian, J. F. Soares, V. Dal Prá, J. R. F. Silva, R. C. Kuhn, M. A. Mazutti, Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids, *Food Bioprod. Process.* 102 (2017) 289-298.
- [20] J. F. Soares, V. Dal Prá, M. Souza, F. C. Lunelli, E. Abaide, J. R. F. Silva, R. C. Kuhn, J. Martinez, M. A. Mazutti, Extraction of rice bran oil using supercritical CO₂ and compressed liquefied petroleum gas, *J. Food Eng.* 170 (2016) 58-63.
- [21] Z. Novello, J. Scapinello, J. Dal Magro, G. Zin, M. Di Luccio, M. V. Tres, J. V. Oliveira, Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane, *Ind. Crops Prod.* 76 (2015) 697-701.
- [22] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, Dispõe sobre o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília.
- [23] H. Li, Z. Zhang, T. Hou, X. Li, T. Chen, Optimization of ultrasound-assisted hexane extraction of perilla oil using response surface. *Ind. Crops Prod.* 76 (2015) 18–24.
- [24] E. Moretto, *Introdução a ciência de alimentos*, Florianópolis: UFSC, 2002.
- [25] C. Capeletto, G. Conterato, J. Scapinello, F. S. Rodrigues, M. S. Copini, F. Kuhn, M. V. Tres, J. D. Magro, J. V. Oliveira, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of guavirova (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) seed extracts obtained by supercritical CO₂ and compressed n-butane *J. Supercrit. Fluids* 110 (2016) 32–38.
- [26] A. P. Simopoulos, The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56 (2002) 365–379.
- [27] S. Siriamornpun, D. Li, L. Yang, S. Suttajit, M. Suttajit, Variation of lipid and fatty acid compositions in Thai Perilla seeds grown at different locations, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28 (2006) 17-21.

[28] O. N. Ciftci, R. Przybylsky, M. Rudzinska, Lipid components of flax, perilla, and chia seeds, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 114 (2012) 794-800.

[29] S. Um, S. R. Bhandari, N. Kim, T. Yang, J. K. Lee, Y. Lee, Characterization of Lipophilic Nutraceutical Compounds in Seeds and Leaves of *Perilla frutescens*, *Korean J. Hortic. Sci.* 31 (2013) 231-238.

4.3 MANUSCRITO 3

**ÓLEOS DE CHIA E PERILLA OBTIDOS POR EXTRAÇÃO COM FLUIDOS
PRESSURIZADOS: ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ÁCIDOS GRAXOS POLI-
INSATURADOS E FITOESTERÓIS**

Gabrielle Scapin^{1*}, Ederson R. Abaide², Susanne P. Druzian², Marcio A. Mazzuti², Raquel G. Vendruscolo¹, Roger Wagner¹, Claudia S. da Rosa¹.

*¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*²Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS/Brasil.*

*Autor correspondente: Gabrielle Scapin (gabi_scapin@yahoo.com.br)

Telefone: +55 55 999454156

Resumo

O objetivo deste trabalho foi extrair óleos de semente de chia e perilla com fluidos pressurizados nas condições a 40 °C/17,5 MPa para CO₂ e 30 °C/1,5 MPa para GLP e avaliar diferenças entre as duas sementes quanto ao teor de óleo, atividade antioxidante, teor de ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis. A semente de perilla apresentou um teor elevado de óleo em relação a chia. O óleo de perilla na concentração de 20 mg mL⁻¹ ainda apresentou atividade antioxidante superior ao óleo de chia na concentração de 40 mg mL⁻¹ quando extraído com CO₂. No entanto, o óleo de chia mostrou uma concentração maior de C18:2 e C18:3 nos dois tipos de extrações e valores de esqualeno e β-sistosterol maiores nas extrações com CO₂.

Palavras-chave: *Salvia hispânica*. *Perilla frutescens*. Dióxido de Carbono. Gás Liquefeito de Petróleo. Ácido α-linolênico.

1.Introdução

Óleos e gorduras são fundamentais na alimentação humana. Fornecem calorias, são fontes de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais como o linoléico e linolênico (CASTRO et al., 2004). Além disso, os óleos de algumas sementes são significativa fonte de tocoferóis e fitoesteróis (SCHMITZ, 2008).

Chia (*Salvia hispanica*) é uma planta herbácea anual, nativa do sul do México e do norte da Guatemala. Chia desapareceu como safra por séculos e foi redescoberta em meados do século 20. A composição de ácidos graxos do óleo de semente de chia é uma alternativa atraente para aplicação em alimentos pela presença de grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (IXTAINA et al., 2010). Segundo Scapin et al. (2017) o óleo de chia pode apresentar teores de até 81% de ácidos graxos poli-insaturados, sendo os componentes principais o α-linolênico (62,97%) e linoléico (18,95%).

Perilla (*Perilla frutescens*) é uma planta herbácea nativa da Ásia, pertencente à família Lamiaceae. Suas sementes possuem até 51% de lipídios totais, sendo que aproximadamente 77% é composta por ácidos graxos poli-insaturados, com 48-61% de ácido graxo α-linolênico e 13-16% de linoléico (SILVA et al., 2015; SCAPIN et al., 2017).

O interesse no uso de sementes de chia e perilla na dieta vêm crescendo, uma vez que benefícios foram reportados a estas oleaginosas, como redução de doenças cardiovasculares,

câncer, doenças neurológicas e desordens hormonais, além de possuírem efeito antioxidante no organismo (SARGI et al., 2013).

Tradicionalmente, os métodos de extração de óleos vegetais empregam solventes orgânicos com alta toxicidade, podendo causar danos ambientais e prejudicar a saúde dos consumidores, além da degradação de alguns componentes termolábeis com o uso de temperaturas muito elevadas (REVERCHON et al., 2006). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi extrair o óleo das sementes de chia e perilla utilizando Dióxido de Carbono (CO₂) e Gás Liquefeito de Petróleo (GLP) pressurizados e comparar as duas sementes quanto ao teor de óleo, atividade antioxidante, teor de ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis.

2. Materiais e Métodos

2.1 Matéria prima

Sementes de chia e perilla foram obtidas no comércio local da cidade de Santa Maria-RS, Brasil, em junho de 2015. As sementes de chia tiveram procedência da cidade de Maringá- PR, Brasil, enquanto as sementes de perilla foram oriundas de Mogi das Cruzes-SP, Brasil. Primeiramente, as mesmas foram desidratadas em estufa com ar forçado a 55 °C por 24 horas atingindo umidade de 7,36 g 100g⁻¹ e 4,03 g 100g⁻¹, respectivamente. Esta etapa foi realizada com o intuito de reduzir o teor de água das amostras, para que a mesma não atue competindo com o soluto na interação com o solvente, que leva a uma redução na eficiência da extração. Após, as amostras foram trituradas utilizando um moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298^a21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10) por 1 minuto e acondicionadas em embalagem plástica escura a -4 °C até o momento dos experimentos.

2.2 Extração dos óleos de chia e perilla

Os lipídios das sementes de chia e perilla foram extraídos com n-hexano em Soxhlet a 80 °C durante 8 h, seguindo o método padrão da IUPAC (1992).

Ainda, as sementes foram submetidas à extração com fluidos pressurizados (CO₂ e GLP). Os experimentos foram realizados em uma unidade de escala laboratorial, que consiste numa célula extratora (encamisada) de aço inox, uma bomba de alta pressão do tipo seringa (ISCO, modelo 500D) e dois banhos termostáticos (Quimis, modelo Q214M2).

As amostras secas e moídas (aproximadamente 5g) foram carregadas na célula extratora. O solvente (CO₂ ou GLP) foi bombeado para o leito e mantido em contato com a matriz vegetal durante 1 h para permitir a estabilização do sistema. Em seguida, com a abertura da válvula micrométrica repetidas vezes, o extrato foi recolhido. Os experimentos foram conduzidos a 17,5 MPa/40 °C para CO₂ e 1,5 MPa/30 °C para GLP, seguindo metodologia de Scapin et al. (2017). A vazão dos solventes foi de 4 g min⁻¹. Para o experimento com CO₂, a extração teve duração de 150 min, e para o GLP, 5 min. As extrações foram realizadas em triplicata.

2.3 Atividade Antioxidante

A determinação da atividade antioxidante dos óleos foi realizada de acordo com metodologia descrita por Al-Fatimi et al. (2007), utilizando o método de sequestro de radicais livres (DPPH•- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil). As amostras de óleo de chia foram diluídas em etanol a uma concentração de 40 mg_{óleo} mL⁻¹_{etanol} e de perilla a 20 mg_{óleo} mL⁻¹_{etanol}, concentrações definidas através de testes prévios. Após, procedeu-se da seguinte forma: 1500 µL da amostra diluída foram adicionadas a 1480 µL da solução de DPPH 0,1 mM e 20 µL de etanol. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra (1500 µL da amostra diluída e 1500 µL de etanol) e um branco para o DPPH (1480 µL de solução de DPPH e 1520 µL de etanol). A leitura em espectrofotômetro UV-VIS (UV-2600, Shimadzu) a 522nm foi realizada após 30 minutos de reação sob abrigo da luz. O cálculo da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi realizado através da equação 1, onde A_{DPPH} corresponde a absorbância da solução de DPPH, A e A_B as absorbâncias da amostra e branco, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

$$AA_{DPPH} = \left(\frac{A_{DPPH} - (A - A_B)}{A_{DPPH}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

2.4 Ácidos graxos poli-insaturados

Para obtenção do perfil de ácidos graxos das amostras obtidas pela extração com CO₂ e GLP pressurizados, cerca de 100 mg das mesmas foram pesadas em tubos de ensaio contendo

1 mg do padrão interno (Pi) tricosanoato de metila (C23:0Me) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Após foram derivatizados de acordo o método descrito por Hartman e Lago (1973).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram analisados pela injeção de 1 μ L em cromatógrafo à gás equipado com detector de ionização em chama (GC-FID) da marca Varian, modelo Star 3400 CX (CA, USA) e amostrador automático Varian, modelo 8200 (CA, USA). O injetor manteve-se no modo *split* com razão 50:1 e temperatura de 250 °C. Gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 15 psi. Os FAME foram separados em coluna capilar CP-Wax 52 CB (Middelburg, The Netherlands) (50 m \times 0,32 mm \times 0,20 μ m). A temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, onde permaneceu 1 min, aumentando para 180 °C com taxa de 10 °C min⁻¹, após até 200 °C com taxa de aumento de 2 °C min⁻¹ e então com taxa de 10 °C min⁻¹ até atingir 230 °C mantendo-se em isoterma por 5 min. O detector foi mantido a temperatura de 240 °C. A identificação dos FAME foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos analitos com padrões FAME Mix-37 (P/N 47885-U; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácidos graxos a partir do uso do Pi de massa conhecida e dos fatores de correção do FID (VISENTAINER, 2009).

2.5 Determinação de fitoesteróis

Os óleos obtidos nas extrações com CO₂ e GLP pressurizados também derivatizados pelo método descrito por Hartman e Lago (1973). Foram analisados em cromatógrafo à gás equipado com detector de ionização em chama (GC-FID) da marca Varian, modelo Star 3400 (CA, USA) e amostrador automático Varian, modelo 8100 (CA, USA). Procedeu-se a injeção de 1 μ L da amostra em injetor no modo *splitless* por 1 min seguido *split* com razão 30:1 e temperatura de 320 °C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 15 psi. Os fitoesteróis foram separados em coluna capilar RTX-5MS (Restek-USA) (30m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m). A temperatura inicial da coluna foi de 200 °C, onde permaneceu 5 min, aumentando para 280 °C com taxa de 15 °C min⁻¹ e então com taxa de 5 °C min⁻¹ até atingir 330 °C, mantendo-se em isoterma por 10 min. O detector foi mantido a temperatura de 320 °C. Os fitoesteróis foram positivamente identificados pela comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massa dos analitos com os dos padrões de α -tocoferol, β -sitosterol e esqualeno, obtidos em cromatógrafo à gás acoplado ao espectrômetro de massas (GC/MS) Shimadzu, QP-2010 Plus (Tokyo, Japan) nas mesmas condições cromatográficas descritas acima, utilizando hélio como gás de arraste, operando no modo de ionização por elétrons (IE)

a 70 Ev, com varredura de 35 a 350 m/z. A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa, comparando-se as áreas obtidas de soluções de concentrações conhecidas dos padrões de α -tocoferol, β -sitosterol e esqualeno com as áreas obtidas das amostras de óleo por meio de uma curva.

2.6 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os resultados foram analisados através do programa STATISTICA 8.0 (STATSOFT, INC).

3. Resultados e Discussão

3.1 Extrações dos óleos

Na Tabela 1 podem ser observados os teores de óleos de chia e perilla extraídos com Soxhlet, CO₂ e GLP. Verificou-se que as sementes de perilla apresentaram teor de óleo superior as sementes de chia nos três métodos de extrações, havendo diferença significativa entre as duas sementes ($p < 0,05$) nas extrações com Soxhlet e GLP.

Tabela 1: Teor de óleos (%) das sementes de chia e perilla extraídos por Soxhlet e fluidos pressurizados

	Soxhlet	CO ₂	GLP
Chia	32,77 ^{bA} ± 0,370	17,40 ^{aC} ± 0,390	24,78 ^{bB} ± 0,896
Perilla	42,53 ^{aA} ± 0,340	19,04 ^{aB} ± 0,998	41,70 ^{aA} ± 0,602

Letras minúsculas diferentes na coluna: houve diferença significativa $p < 0,05$ entre as duas sementes

Letras maiúsculas diferentes na linha: houve diferença significativa $p < 0,05$ entre o método utilizado na extração

Quanto ao método empregado nas extrações, observa-se que tanto para chia como perilla, o método de referência (Soxhlet) foi o que obteve um maior rendimento, seguido das extrações com GLP. O óleo de chia e perilla, de caráter apolar, se solubiliza mais facilmente em hexano, que também apresenta um caráter mais apolar. Ainda, a solubilidade do óleo com Soxhlet é maior devido ao fato de o solvente estar em temperatura elevada.

A extração do óleo de perilla com GLP comprimido não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao Soxhlet, ou seja, a extração foi bastante eficiente. As extrações com CO_2 apresentaram rendimento menor, tanto para chia como para perilla.

Ixtaina et al. (2011), em extrações com Soxhlet, encontraram 33,6% de óleo em sementes de chia provenientes da Argentina, valores próximos ao encontrado neste estudo, e 26,7% de sementes provenientes da Guatemala. Existem diversos fatores que podem estar relacionados às variações das concentrações dos compostos ativos presentes nas sementes de chia. Um deles é a área de cultivo da planta, que está relacionada às diferenças no ambiente, mudanças climáticas, disponibilidade de nutrientes, ano de cultivo, ou as condições do solo, que desempenham um papel crucial para as variações (DUBOIS et al., 2007). As diferenças entre os locais são presumidamente ocasionadas por um ou mais fatores ambientais. Os efeitos como a temperatura, luz, solo e nutrição podem afetar a quantidade e a qualidade do óleo das sementes.

Zanqui et al. (2015) avaliaram o teor de óleo de chia extraído por diferentes métodos, incluindo Soxhlet e n-propano subcrítico. A extração com Soxhlet teve um rendimento de 30,21%, enquanto a extração com n-propano comprimido teve rendimento variando de 23,61% (8 MPa/ 30 °C) a 28,16% (10 MPa/ 45 °C), resultados próximos aos encontrados no presente estudo em extração com GLP pressurizado.

Tang et al. (2013) observaram que o rendimento de óleo de perilla em uma extração com Soxhlet foi de aproximadamente 45%, valores próximos aos obtidos neste estudo, e ainda verificaram que a extração do óleo com CO_2 supercrítico nas condições de 20 MPa/40 °C por 2 horas apresentou rendimentos de 34%, valor superior ao encontrado neste estudo (19,04%). Isso pode ser explicado pela pressão inferior que foi utilizada, que diminui a densidade do solvente e conseqüentemente, o poder de extrair o óleo (SCAPIN et al., 2017).

Silva et al. (2015) compararam extrações de óleo de perilla com n-propano, éter etílico e éter de petróleo e observaram que as extrações com solventes tiveram rendimento estatisticamente superior (40,06%) às extrações com n-propano (33-34%) nas condições de 8-16 MPa e 40-80 °C por 80 minutos, valor inferior ao encontrado no presente estudo utilizando GLP comprimido.

3.2 Atividade antioxidante

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de atividade antioxidante dos óleos de chia e perilla nas concentrações de 40 mg mL⁻¹ e 20 mg mL⁻¹ respectivamente, obtidas por

extração com fluidos pressurizados. Observa-se que nas extrações com CO₂, o óleo de perilla, mesmo em concentração menor, apresentou atividade antioxidante significativamente superior ($p < 0,05$) ao óleo de chia (92,03 e 79,47 % respectivamente). Já nas extrações com GLP comprimido, ocorreu o oposto, o óleo de chia apresentou atividade antioxidante estatisticamente superior ao óleo de perilla.

Tabela 2: Atividade antioxidante de sementes de chia (40 mg mL⁻¹) e perilla (20 mg mL⁻¹) extraídos CO₂ e GLP pressurizados, expressa em porcentagem de sequestro de radicais DPPH•

	CO ₂	GLP
Chia	79,47 ^b ±0,436	61,52 ^a ±0,092
Perilla	92,03 ^a ±0,097	50,32 ^b ±0,130

Letras minúsculas diferentes na coluna: houve diferença significativa $p < 0,05$ entre as duas sementes

Observou-se ainda que, tanto para o óleo de chia como de perilla, as extrações com CO₂ apresentaram atividade antioxidante superior as extrações com GLP. Resultados semelhantes foram encontrados por Abaide et al. (2017) ao analisar a atividade antioxidante de óleo de abacate na concentração de 40 mg mL⁻¹, extraído com CO₂ supercrítico e GLP comprimido, onde foi relatado atividade antioxidante superior para os óleos extraídos com CO₂, chegando a valores máximos de 82%, enquanto os óleos extraídos com GLP comprimido apresentaram valores máximos de atividade antioxidante de 31%.

Entre os antioxidantes mais encontrados em óleos podem ser citados tocoferóis e os ácidos fenólicos. Os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e atualmente são fabricados por síntese. A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida à capacidade de doar seus hidrogênios aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação em cadeia. Os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes (JORGE; RAMALHO, 2006).

3.3 Ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis

O teor dos principais ácidos graxos poli-insaturados das sementes de chia e perilla estão apresentados na Tabela 3. Os óleos de chia e perilla extraídos com CO₂ não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre si quanto ao teor de C 18:3 (ácido α -linolênico) apresentando valores de 60,63 e 58,00 %, respectivamente. A proporção poli-insaturados/saturados também não apresentou diferença significativa entre as duas sementes, e evidenciou a predominância de ácidos graxos poli-insaturados em relação a saturados nas mesmas.

Tabela 3: Composição de ácidos graxos poli-insaturados (%) dos óleos de chia e perilla extraídos com CO₂ e GLP comprimido

		C18:3	C18:2	Poli/Sat	n6/n3
CO ₂	Chia	60,63 ^a ±0,306	18,72 ^a ±0,133	6,49 ^a ±0,190	0,30 ^a ±0,001
	Perilla	58,00 ^a ±1,678	15,09 ^b ±0,250	6,52 ^a ±0,705	0,26 ^b ±0,012
GLP	Chia	61,43 ^a ±1,360	18,49 ^a ±0,075	6,71 ^a ±0,531	0,30 ^a ±0,007
	Perilla	57,24 ^b ±0,877	14,92 ^b ±0,14	7,50 ^a ±0,428	0,26 ^b ±0,002

Letra minúscula diferente na coluna indica diferença significativa $p<0,05$ entre as duas sementes, para cada método.

Quanto ao C18:2 (ácido linoléico), a semente de chia teve um valor estatisticamente ($p<0,05$) superior a perilla (18,72 % e 15,09 %, respectivamente), levando a uma proporção n6/n3 maior para a semente de chia, na extração com CO₂. Apesar disso, tanto as sementes de chia quanto as de perilla mostram a predominância de ácidos graxos n3 em relação a n6 nas mesmas, ou seja, as sementes de chia e perilla podem ser utilizadas como fonte de enriquecimento de ômega 3 na dieta.

Atualmente, a busca de fontes alternativas e complementares de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 tornou-se uma necessidade, a fim de se alterar a razão entre o somatório dos ácidos ômega-6/ômega-3 (n-6/n-3) ingeridos. As quantidades de ácidos graxos e as razões entre os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, ingeridas atualmente pelo homem, são difíceis de serem analisadas, pois dependem da fisiologia, disponibilidade de alimento e dieta de cada indivíduo. Ainda não foram precisamente estabelecidas as taxas mínimas do consumo de ácidos graxos das séries n-3 e n-6 para atender às exigências humanas destes nutrientes, porém, há necessidade de um equilíbrio entre as disponibilidades destes ácidos graxos na

alimentação. De acordo com o Simopoulos (2011) a relação satisfatória da razão entre n-6/n-3 é de 10:1 a 5:1, enquanto hoje, em dietas ocidentais, a relação atinge 10 a 25:1, causando um desbalanceamento dos ácidos graxos no organismo humano.

Por outro lado, para os óleos de chia e perilla extraídos com GLP, houve diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de ácido graxo α -linolênico e linoléico, onde o óleo de chia apresentou resultados superiores para estes dois ácidos graxos. A proporção n6/n3 foi estatisticamente maior para a semente de chia, mas evidenciou que as duas sementes podem ser usadas para enriquecer a dieta com ácidos graxos poli-insaturados. Estes ácidos graxos são considerados essenciais, pois não podem ser sintetizados no corpo e, portanto, precisam ser adquiridos através da dieta (AGUIAR, 2011).

A proporção poli-insaturados/saturados não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as duas sementes extraídas com GLP comprimido, porém evidenciaram altas concentrações de ácido graxo poli-insaturado nas mesmas.

Zanqui et al. (2015) avaliaram a extração de óleo de chia com n-propano subcrítico e relataram valores 0,32 a 0,35 para a proporção n6/n3 dependendo das condições de pressão e temperatura utilizadas, resultados similares aos encontrados neste estudo (0,30) para a extração com GLP.

Uribe et al. (2011) extraíram óleo de chia com CO₂ supercrítico e encontraram resultados de até 18,15% para ácido linoléico e 66% para ácido linolênico, dependendo das condições de extração, valores próximos aos encontrados neste estudo.

Ixtaina et al. (2011) relataram uma proporção poli-insaturados/saturados de 8,8-9,2 dependendo das condições de pressão e temperatura utilizadas no processo de extração de óleo de chia com CO₂ supercrítico. Estes valores foram superiores aos encontrados neste estudo, que foram de 6,4 a 6,7.

Jung et al. (2012) estudaram as extrações de óleo de perilla com n-hexano (Soxhlet), CO₂ supercrítico e por prensagem e os resultados encontrados mostraram que os óleos extraídos pelos três métodos não apresentaram diferença estatística em relação ao ácido graxo α -linolênico (61 a 62%). Estes resultados estão em concordância com o presente estudo, onde o método não influenciou no teor de ácido linoléico e α -linolênico.

Rouphael et al. (2015) analisaram o perfil de ácidos graxos de óleo de perilla extraído por Soxhlet e encontraram valores de 61,6% para o ácido α -linolênico, valor superior aos encontrados na presente pesquisa (máximo de 58,00% na extração com CO₂).

A proporção de óleos vegetais desempenha um papel importante na composição química da semente. Isto é determinado pela relação entre os ácidos graxos saturados e

insaturados. Condições que apresentam uma elevada quantidade de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados são particularmente desejáveis em produtos alimentares (LIEPA; GORMAN, 1988), levando as sementes de chia e perilla a terem um grande interesse por parte da indústria para elaboração de produtos enriquecidos com gorduras poli-insaturadas.

A Tabela 4 mostra os teores de esqualeno, α -tocoferol e β -sitosterol em sementes de chia e perilla extraídos com CO₂ e GLP comprimido. O óleo de chia apresentou resultados estatisticamente superiores ($p < 0,05$) ao óleo de perilla quanto a teores de esqualeno e β -sitosterol utilizando extração com CO₂. Teores estatisticamente superiores de esqualeno também foram identificados no óleo de chia em comparação com o óleo de perilla extraído com GLP.

Tabela 4: Fitoesteróis (mg 100g⁻¹) dos óleos de chia e perilla extraídos com CO₂ e GLP comprimido

		Esqualeno	α -tocoferol	β -sitosterol
CO ₂	Chia	18,18 ^a ±2,122	-	36,46 ^a ±3,571
	Perilla	0,87 ^b ±0,150	-	19,98 ^b ±2,091
GLP	Chia	27,14 ^a ±1,054	5,51 ^a ±0,714	28,62 ^b ±0,872
	Perilla	3,91 ^b ±0,376	7,23 ^a ±1,127	44,88 ^a ±6,631

Letra minúscula diferente na coluna indica diferença significativa entre chia e perilla para cada método

Ainda em relação aos dois óleos extraídos com GLP, não houve diferença significativa em relação a quantidades de α -tocoferol em óleos chia e perilla e os teores de β -sitosterol foram estatisticamente ($p < 0,05$) superiores nas sementes de perilla. Os fitoesteróis possuem qualidades bioativas com implicações positivas para saúde humana (SEGURA et al., 2006), especialmente a sua capacidade de diminuir o colesterol plasmático. Os fitoesteróis são componentes chaves das membranas celulares vegetais, sendo que os mais abundantes em alimentos são o β -sitosterol, o campesterol e o estigmasterol, que apresentam uma estrutura química semelhante ao colesterol, diferindo somente em seus comprimentos da cadeia lateral (HICKS, MOREAU, 2001). Esta similaridade na estrutura explica a capacidade dos fitoesteróis em reduzir o colesterol. Uma dieta balanceada com quantidades adequada de hortaliças fornece aproximadamente 0,2-0,4g de fitoesteróis. A ingestão de 3-4g/dia de fitoesteróis promove a redução de nível de LDL-colesterol de 10-15% em média

(SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2001). Suas fontes principais são as sementes, castanhas, hortaliças e frutas, óleos vegetais e cereais (CHEIKH-ROUHOU et al., 2008).

Kim et al. (2012) analisaram óleo de perilla de diferentes localidades e encontraram de 0,62 a 1,01 mg 100g⁻¹ de α -tocoferol, valores inferiores aos encontrados no presente estudo, e 285 a 385 mg 100 g⁻¹ de β -sitosterol.

Cifcti et al. (2012), em sua pesquisa, compararam as sementes de chia, perilla e linhaça quanto ao teor de tocoferóis e fitoesteróis e relataram que a semente de perilla apresentou resultados estatisticamente superiores em relação a chia quanto ao teor de α -tocoferol (2,1 mg 100 g⁻¹ para perilla e 0,8 mg 100 g⁻¹ para chia) e β -sitosterol (337 mg 100 g⁻¹ para perilla e 205 mg 100 g⁻¹ para chia), discordando dos resultados do presente estudo, em que a chia teve teores superiores destes dois compostos.

4. Conclusões

Este trabalho mostrou que as duas sementes avaliadas, chia e perilla, são excelente fonte de gorduras poli-insaturadas, independente do fluido utilizado para a extração. No entanto, a semente de chia apresentou teores superiores de ácido graxo ácido α -linolênico e de fitoesteróis como esqualeno e β -sitosterol. Por outro lado, a semente de perilla, além de apresentar um maior conteúdo total de óleo em comparação à chia, mostrou uma maior atividade antioxidante.

Dessa forma, tendo em vista as características encontradas para as duas sementes pode-se concluir que as mesmas tem grande potencial para serem utilizadas na indústria de alimentos com o objetivo de enriquecer produtos com gorduras poli-insaturadas.

Referências

ABAIDE, E. R.; ZABOT, G. L.; TRES, M. V.; MARTINS, R. F.; FERNANDEZ, J. L.; NUNES, L. F.; DRUZIAN, S.; SOARES, J. F.; DAL PRÁ, V.; SILVA, J. R. F.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M.A. Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids, **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 289-298, 2017.

AGUIAR, A. C. Quantification of essential fatty acids in the heads of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with linseed oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 643-647, 2011.

AL-FATIMI, M.; WURSTER, M.; SCHRÖDER, G.; LINDEQUIST, U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 657-666, 2007.

AYERZA, R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica L.*), from five locations in Northwestern Argentina. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 72, p. 1079–1081, 1995.

CASTRO, H. F. D. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**. v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CHEIKH-ROUHOUS, BESBES S, LOGNAY G, BLECKER C, DEROANNE C, ATTIA H. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa L.*) and Aleppo pine (*Pinus halepensis Mill.*) seed oils. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.21, p.162-168, 2008.

CIFTCI, O. N.; PRZYBYLSKI, R.; RUDZINSKA, M. Lipid components of flax, perilla, and chia seeds. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, p 794-800, 2012.

DUBOIS, V. BRETON, S.; LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER, M. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 7, p. 710–732, 2007.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, v.22, p. 475-476, 1973.

HICKS KB, MOREAU RA. Phytosterols and phytosteranols: functional food cholesterol busters. **Food Technology**. v.55, n.1, p. 63-67, 2001.

IUPAC, 1992. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates. 7th ed. International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific Publications Inc., Oxford, England.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; ET AL. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166- 174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; MATTEA, F.; CARDARELLI, D. A.; MATTEA, M. A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of Argentinean Chia seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, p 289-298, 2011.

IXTAINA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMAS, M. C.; GIMENO, M.; BARZANA, E.; TECANTE, A. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica L.*): Characterization and process optimization. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, p. 192-199, 2010.

JORGE, N.; RAMALHO, V. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, p. 755-760, 2006.

JUNG, D.M.; YOON, S. H.; JUNG, M. Y. Chemical Properties and Oxidative Stability of Perilla Oils Obtained From Roasted Perilla Seeds As Affected by Extraction Methods. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 12, p. 1249-1255, 2012.

KIN, J. K.; PARK, S.; NA, J.; SEONG, E. S.; YU, Y. Metabolite Profiling Based on Lipophilic Compounds for Quality Assessment of Perilla (*Perilla frutescens*) Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2257-2263, 2012.

LIEPA, G.U.; GORMAN, M.A. Nutritional and health aspects of dietary lipids. **Introduction to Fats" and Oils Technology**. Champaign: American Oil Chemists' Society 1988, p. 321-330.

ROUPHAEL, Y.; RAIMONDI, G.; PADUANO, A.; SACCHI, R.; BARBIERI, G.; PASCALE, S. Influence of organic and conventional farming on seed yield, fatty acid composition and tocopherols of Perilla. **Australian Journal Crop Science**, v. 9, n.4, p. 303-308, 2015.

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

SARGI, S. C.; SILVA, B. C.; SANTOS, H. M.; MONTANHER, P. F.; BOEING, J. S.; SANTOS, O., O.; SOUZA, N., E.; VISENTAINER, J., V. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 541-548, 2013.

SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; NUNES, L. F.; MAZUTTI, M.A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; ROSA, C. S. Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids, **Journal of Supercritical Fluids**, v.127, p. 90-96, 2017.

SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; MARTINS, R.; MAZUTTI, M.A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; ROSA, C. S. Quality of perilla oil (*Perilla frutescens*) extracted with compressed CO₂ and LPG, **Journal of Supercritical Fluids**, v.130, p. 176-182, 2017.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 47, p. 147-155, 2008.

SEGURA R, JAVIERRE C, LIZARRAGA MA, ROS E. Other relevant components of nuts: phytosterols, folate and minerals. **British Journal of Nutrition**. v.2, p.36-44, 2006.

SILVA, C. M.; ZANQUI, A. B.; SOUZA, A. H. P.; GOHARA, A. K.; SOUZA, A. H. P.; CARDOZO FILHO, L.; VISENTAINER, J. V.; CHIAVELLIA, L. U. R.; BITTENCOURTD, P. R. S.; SILVA, E. A.; MATSUSHITA, M. Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*), **Journal of Supercritical Fluids**, v. 102, p. 1-8, 2015.

SILVA, C. M.; ZANQUI, A. B.; SOUZA, A. H. P.; GOHARA, A. K.; CHAVES, M. A.; GOMES, S. T. M.; CARDOZO FILHO, L.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Chemometric Study of Perilla Fatty Acids from Subcritical *n*-Propane Extracted Oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 1, p 14-21, 2015.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet: the omega-6/ omega-3 ratio and the brain. **Molecular Neurobiology**, v. 44, p. 203-215, 2011.

Sociedade Brasileira de Cardiologia, III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose, 2001.

TANG, W.; SUN, Y.; LIU, Y.; WEI, Y.; ZHAO, Y. Fast extraction of bioactive fatty acids from the Perilla seeds by smash tissue extraction. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 2, p. 513-517, 2013.

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

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v. 19, p. 380-385, 2009.

ZANQUI, A. B.; MORAIS, D. R.; SILVA, C. M.; SANTOS, J. M.; CHIAVELLI, L. U.; BITTENCOURT, P.R.S.; EBERLIN, M. N.; VISENTAINER, J. V.; CARDOZO, L.; MATSUSHITA, M. Subcritical Extraction of *Salvia hispanica* L. Oil with *N*-Propane: Composition, Purity and Oxidation Stability as Compared to the Oils Obtained by Conventional Solvent Extraction Methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.26, n.2, p 282-289, 2015.

5. CONCLUSÕES GERAIS

A obtenção do óleo de chia pela extração com fluidos pressurizados apresentou rendimentos superiores nas condições de maior pressão e temperatura, alcançando valores de 21,93% (na condição 25 MPa/60 °C da extração com CO₂) e 27,13% (na condição 2,5 MPa/40 °C da extração com GLP). Nestas condições, o óleo obtido com GLP mostrou atividade antioxidante em DPPH maior do que o óleo obtido com CO₂ (70,16 AA% e 20,15 AA%, respectivamente).

Para as extrações de óleo de perilla com CO₂ houve influência positiva da pressão, onde o maior rendimento (31,80%) foi obtido na condição de 25 MPa/20 °C. Por outro lado, nas extrações GLP houve influência negativa da temperatura e a condição 0,5 MPa/20 °C foi a que apresentou maior rendimento (42,29%), valor muito próximo ao obtido na extração utilizando Soxhlet (42,53%), mostrando que a extração de óleo de perilla com GLP foi altamente eficiente. Nestas condições de extração, a atividade antioxidante foi maior para o óleo extraído com GLP comprimido.

Os óleos de chia e perilla extraídos por CO₂ e GLP pressurizados apresentaram valores dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pela RDC nº 270 de 22/09/2005 da ANVISA.

A composição de ácidos graxos dos óleos de chia extraídos pelos dois fluidos pressurizados dentro da faixa de pressão e temperatura estudada foi bastante similar, ou seja, as condições de pressão e temperatura utilizadas não tiveram influência significativa no perfil de ácidos graxos dos óleos extraído. O mesmo comportamento foi observado nas extrações do óleo de perilla.

Observou-se que perilla tem conteúdo total de óleo e atividade antioxidante superior a chia. Porém, chia apresentou conteúdo superior de ácido graxo α -linolênico e de fitoesteróis.

Dessa forma, pode-se concluir que o GLP comprimido é um solvente promissor na extração dos óleos de chia e perilla, considerando seus altos rendimentos em tempos extremamente reduzidos e maiores atividades antioxidantes nos pontos ótimos de rendimento. Entretanto, os dois solventes se mostraram eficientes para extração de óleos com altas quantidades de ácido α -linolênico e compostos bioativos envolvidos na prevenção de doenças cardiovasculares, podendo ter grande potencial dentro da indústria de alimentos para elaboração de produtos com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados.

REFERÊNCIAS

- ABAIDE, E. R.; ZABOT, G. L.; TRES, M. V.; MARTINS, R. F.; FERNANDEZ, J. L.; NUNES, L. F.; DRUZIAN, S.; SOARES, J. F.; DAL PRÁ, V.; SILVA, J. R. F.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M.A. Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids, **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 289-298, 2017.
- AHANGARI, B.; SARGOLZAEI, J. Extraction of Pomegranate Seed Oil Using Subcritical Propane and Supercritical Carbon Dioxide. **Theoretical Foundations of Chemical Engineering**. v. 46, n. 3, p. 258–265, 2012.
- 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.
- AYERZA, R.; COATES, W.; LAURIA, M. Chia seed (*Salvia hispanica L.*) as na omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. **Poultry Science**, v.81, n.6, p.826-837, 2002.
- AZEVEDO-MELEIRO, C.H. de; GONCALVES, L.A.G. Teores de ácidos graxos trans em gorduras hidrogenadas comerciais brasileiras. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra**, Seropedica, RJ: EDUR, v. 24, n. 1-2, p. 75-81, 2005.
- BARRETO, S. M.; PASSOS, V. M. A.; FIRMO, J. O. A.; GUERRA, H. L.; VIDIGAL, P. G.; LIMA-COSTA, M. F. F. Hypertension and clustering of cardiovascular risk factors in a community in Southeast Brazil- The Bambui Health and ageing study. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**. v. 77, n.6, p.576-581, 2001.
- BAIGENT, C.; BLACKWEL, L.; EMBERSON, J.; HOLLAND, L.; REITH, C.; BHALA, N. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. **Lancet**. v. 376, p. 1670-81, 2010.
- BEMELMANS, W. J. E.; BROER, J; FESKENS, E. J. M. Effect of na increased intake of α -linolenic acid group nutritional education on cardiovascular risk factors: the Mediterranean Alpha-linolenic Enriched Groningen Dietary Intervention (MARGARIN) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, p. 221-227, 2002.
- BENOIT, S. C.; KEMP, C. J.; ELIAS, C. F. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC- θ subcellular localization in rodents. **Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 9, p. 2577-2589, 2009.
- BERGER, S.; RAMAN, G.; VISHWANATHAN, R.; JACQUES, P.; JOHNSON, E. Dietary cholesterol and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 102, p. 276-294, 2015.
- BOSS, E. A. **Análise do desempenho de plantas de extração de óleo convencionais e de processos supercríticos**, 121 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – FEQ – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2000.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1-2, p. 21–33, 2005.

BRUNETON, J. In: **Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants**. Intercept Ltd., London, England, p. 111-144, 1995.

CAPELETTO, C.; CONTERATO, G.; SCAPINELLO, J. RODRIGUES, F. S.; COPINI, M. S.; KUHN, F.; TRES, M. V.; MAGRO, J. D.; OLIVEIRA, J. V. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of guavirova (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) seed extracts obtained by supercritical CO₂ and compressed n-butane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 110, p. 32-38, 2016.

CASSEL, E.; VARGAS, R.M.F.; BRUN, G.W. Processos de extração supercrítica aplicados a produtos naturais. In: Cassel, E.; Rocha, L.M. (Org.). **Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos**, 2.ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 213-228, 2008.

COATES, W.; AYERZA, R. Production potential of chia in north-western Argentina. **Industrial Crop Production**, v. 5, p. 229-233, 1996.

CRAIG, R.; SONS, M. Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia as novel food ingredients. **Advisory Committee for Novel Foods and Processes**, p. 1–29, 2004.

DEGENHARDT, A.; HABBEN, S.; WINTERHALTER, P. Isolation of the lignan secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 943, p. 299-302; 2002.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J.C. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2441-2469, 2006.

GALLI, C.; MARANGONI, F. N-3 fatty acids in the Mediterranean diet. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, p.129-133, 2006.

GARCIA, V. A. S.; CABRAL, V. F.; ZANOELO, E. F.; SILVA, C.; CARDOZO-FILHO, L. Extraction of Mucuna Seed Oil Using Supercritical Carbon Dioxide to Increase the Concentration of L-Dopa in the Defatted Meal. **Journal Supercritical Fluids**, n. 69, p. 75-81, 2012.

GUNSTONE, F. D.; PADLEY, F. B. **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Decker, Inc., 1997.

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, F. B.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 1001-1008, 1999.

HUANG, Z. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of Baizhu: Experiments and modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, n. 1, p. 31–39, 2011.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; ET AL. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166- 174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMAS, M. C. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica L.*) Seed Oil: effect of Antioxidants and Storage Conditions, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1077–1090, 2012.

KIM, J. K.; PARK, S. Y.; NA, J. K.; SEONG, E. O.; YU, C. Y. Metabolite profiling based on lipophilic compounds for quality assessment of Perilla (*Perilla frutescens*) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2257–2263, 2012.

KIM, H. K.; CHOI, S.; CHOI, H. Suppression of hepatic fatty acid synthase by feeding α -linolenic acid rich perilla oil lowers plasma triacylglycerol level in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 15, p. 485–492, 2004.

KINSELLA, J. E. α -Linolenic acid: functions and effects on linoleic acid metabolism and eicosanoid mediated reactions. **Advances in Food and Nutrition Research**, 35. Academic Press, San Diego, CA, pp. 1–184.

KUROWSKA, E. M.; DRESSER, G.; DEUTSCH, L.; VACHON, D.; KAHLIL, W. Bioavailability of omega-3 essential fatty acids from perilla seed oil. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, p. 207-212, 2003.

LEE, B.H.; RYU, S.N.; KWAK, T.S. Current status and prospects of quality evaluation in perilla. **Korean Journal Crop Science**, v. 47, p. 150–162, 2002.

LONGVAH, T.; DEOSTHALE, Y.G.; UDAY KUMAR, P. Nutritional and short term toxicological evaluation of perilla seed oil. **Food Chemistry**, v. 70, p. 13–16, 2000.

LUQUE DE CASTRO, D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**. v. 369, n. 1-2, p. 1–10, 1998.

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., p. 79–100, 2013.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização química de extratos de Hibiscus tiliaceus L: Estudo comparativo de métodos de extração**. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MENG, L. et al. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* Varieties. **Molecules**, v. 14, p. 133-140, 2009.

MENSINK R. P.; KATAN, M. B. Effect of a diet enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids on levels of low-density and high-density lipoprotein cholesterol in healthy women and men. **The New England Journal of Medicine**, v.321, p. 436-41, 1989.

MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e Gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na industria de alimentos**. Sao Paulo. Varela, p. 144, 1998.

MOREAU, R. A.; WHITAKER, B. D.; HICKS, K. B. Phytosterols, phytosterols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. **Progress in Lipid Research**, v. 41, p. 457-500, 2002.

MOZZAFFARIAN, D. Does alpha-linolenic acid intake reduce the risk of coronary heart disease? A review of the evidence. **Alternative Therapies In Health And Medicine**, v. 11, n. 3, p. 24-30, 2005.

NOVELLO, Z.; SCAPINELLO, J.; DAL MAGRO, J.; ZIN, G.; DI LUCCIO, M.; TRES, M. V.; OLIVEIRA, J. V. Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 697-701, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. Fact sheet nº 317; 2013. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>.

PEREZ-GIMENEZ, F.; ALVAREZ, C. F.; BADIMON, L. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. **Journal of Clinical Investigation**, v. 35, n. 7, p. 421-424, 2004.

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.

POURMORTAZAVI S.M.; HAJIMIRSADEGHI S.S. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of Chromatography A**, v.1163, p. 2-24, 2007.

SADI, A. M.; TODA, T.; OKU, H.; HOKAMA, S. Dietary effects of corn oil, oleic acid, Perilla oil, and primrose oil on plasma and hepatic lipid level and atherosclerosis in Japanese quail. **Experimental Animals**, n. 45, p. 55-62, 1996.

SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; NUNES, L. F.; MAZUTTI, M.A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; ROSA, C. S. Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids, **Journal of Supercritical Fluids**, v.127, p. 90-96, 2017.

SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; MARTINS, R.; MAZUTTI, M.A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; ROSA, C. S. Quality of perilla oil (*Perilla frutescens*) extracted with compressed CO₂ and LPG, **Journal of Supercritical Fluids**, v.130, p. 176-182, 2017.

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.

SILVA, C. M.; ZANQUIA, A. B.; GOHARAB, A. K.; SOUZA, A. H. P.; CARDOZO-FILHO, L.; VISENTAINER, J.V.; CHIAVELLIA, L. U. R.; BITTENCOURTD, P. R. S.; SILVA, E. A.; MATSUSHITA, M. Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 102, p. 1-8, 2015.

SINGH, J., BARGALE, P.C. Development of a small capacity double stage compression screw press for oil expression. **Journal of food Engineering**, v. 43, p. 75-82, 2000.

SMITH, R.M. Supercritical fluids in separation science – the dreams, the reality and the future. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 83-115, 1999.

TANG, J. L.; ARMITAGE, J. M.; LANCASTER, T. Systematic review of dietary intervention trials to lower blood total cholesterol in free-living subjects. **British Medical Journal**, v. 316, p. 1213-1220; 1998.

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.

World Health Organization.(WHO). Global status report on non communicable disease 2014. Geneva; 2014

WU, H. et al. Essential oil extracted from peach (*Prunus persica*) kernel and its physicochemical and antioxidant properties. **LWT – Food Science and Technology**. v. 44, p. 2032-2039, 2011.

ZANQUI, A. B.; MORAIS, D. R.;SILVA, C. M.; SANTOS, J. M.; CHIAVELLI, L. U.; BITTENCOURT, P.R.S.; EBERLIN, M. N.; VISENTAINER, J. V.; CARDOZO, L.; MATSUSHITA, M. Subcritical Extraction of *Salvia hispanica* L. Oil with *N*-Propane: Composition, Purity and Oxidation Stability as Compared to the Oils Obtained by Conventional Solvent Extraction Methods. **Jounal of the Brazilian Chemical Society**, v.26, n.2, p 282-289, 2015.

ZEKONIS, G. JONAS, Z. , RENATA, S.; GENOVAITĖ, S.; EGIDIJUS, K. Effect of *Perilla frutescens* aqueous extract on free radical production by human neutrophil leukocytes. **Medicina Kaunas**, v. 44, p. 699-705, 2008.

ANEXOS

ANEXO A- MANUSCRITO 1 PUBLICADO

The Journal of Supercritical Fluids 127 (2017) 90–96



Contents lists available at ScienceDirect

The Journal of Supercritical Fluids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/supflu

Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids



Gabrielle Scapin^{a,*}, Ederson R. Abaide^b, Lucieli F. Nunes^b, Márcio A. Mazutti^b, Raquel G. Vendruscolo^a, Roger Wagner^a, Claudia S. da Rosa^a

^a Department of Food Technology, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil

^b Department of Chemical Engineering, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Chia
Pressurized fluids
Polyunsaturated acids
Phytosterols

ABSTRACT

Pressurized CO₂ and LPG were used to extract chia oil at different pressures and temperatures. The effects of the latter on oil yield, antioxidant activity, and the profiles of fatty acids and phytosterols were evaluated. The optimal yields were obtained under the conditions of higher pressure and temperature for both CO₂ (21.93%) and LPG (27.13%). Under the same conditions, the oil extracted with LPG had higher antioxidant activity in DPPH than that extracted with CO₂ (70.16 AA% and 20.15 AA%, respectively). The fatty acid profile was similar between the two solvents, and α -linolenic acid predominated. Bioactive compounds such as squalene, α -tocopherol and β -sitosterol were quantified.

ANEXO B: MANUSCRITO 2 PUBLICADO

The Journal of Supercritical Fluids 130 (2017) 176–182



Contents lists available at ScienceDirect

The Journal of Supercritical Fluids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/supfluQuality of perilla oil (*Perilla frutescens*) extracted with compressed CO₂ and LPG

Gabrielle Scapin^{a,*}, Ederson R. Abaide^b, Rafael F. Martins^b, Raquel G. Vendruscolo^a, Márcio A. Mazutti^b, Roger Wagner^a, Claudia S. da Rosa^a

^a Department of Food Technology, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil

^b Department of Chemical Engineering, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Santa Maria 97105-900, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Perilla
Carbon dioxide
Liquefied petroleum gas
 α -linolenic acid
Phytosterols

ABSTRACT

Perilla seed oil was extracted using compressed fluids, with varied temperature and pressure, in order to assess how they affect extraction yield, antioxidant activity, fatty acids, and phytosterols. Highest yields occurred for 25 MPa/20 °C with extraction using compressed CO₂ (31.80%) and for 0.5 MPa/20 °C with extraction using compressed LPG (42.29%). In this conditions, oil extracted with LPG presented antioxidant activity in DPPH higher than that extracted with CO₂ (50.20 AA% and 46.44 AA%, respectively). Fatty acid profile was similar for both fluids used, with predominant polyunsaturated fatty acids, mainly α -linolenic acid. Furthermore, bioactive compounds, such as squalene, α -tocopherol, and β -sitosterol, were quantified.