

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS DE RESÍDUOS DE FILETAGEM DE
PESCADA-OLHUDA (*Cynoscion striatus*) UTILIZANDO
TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA**

**ANA CAROLINA DE AGUIAR
Engenheira de Alimentos**

Orientador: Prof. Dr. Julian Martínez

**Florianópolis – SC
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS DE RESÍDUOS DE FILETAGEM DE
PESCADA-OLHUDA (*Cynoscion striatus*) UTILIZANDO
TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos na Indústria de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Julian Martínez

**ANA CAROLINA DE AGUIAR
Engenheira de Alimentos**

**Florianópolis – SC
2011**

AGRADECIMENTOS

Ao professor Julian Martínez, pela orientação e motivação durante todas as etapas da dissertação;

Ao professor Jesuí V. Visentainer, pela imensa contribuição à minha formação acadêmica desde a iniciação científica e por disponibilizar o Laboratório de Análise de Alimentos para realização de parte deste estudo;

À professora Maria Angela de Almeida Meireles, por disponibilizar a estrutura do LASEFI para realização de parte deste estudo;

Aos professores Sandra R. S. Ferreira, Haiko Hense, Makoto Matsushita e Nilson E. de Souza pelas orientações;

À aluna de iniciação científica Lizandra, pelo auxílio na realização das análises;

Aos meus amigos do Laboratório de Análise de Alimentos: Damila, Marcela, Joana, Bia, Polyana, Paulinha, Solange e Elton, pela recepção sempre calorosa, ajuda e os bons momentos compartilhados;

Aos colegas do LATESC pelo auxílio e companhia;

Aos colegas de LASEFI, em especial à Priscilla e ao Ari, pela compreensão e auxílio durante as análises;

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, em especial a professora Alcinele R. M. Fritz e a Raquel Agostineto pelo apoio e suporte fornecidos para a realização deste trabalho;

À CAPES e FAPESC pelo apoio financeiro;

A Raquel, Joanna, Tadeu, Venícios, Karina e Mauro, pela belíssima amizade que foi construída durante esses dois anos;

Aos meus pais, Antonio e Mara e meus irmãos, Sílvia, Tadeu e Fernanda pelo amor e apoio incondicional;

Ao Arthur;

A todas as outras pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

*"Ciência é muito mais uma maneira de pensar
do que um corpo de conhecimento"*

Carl Sagan

RESUMO

A pescada-olhuda é um importante recurso pesqueiro na região sul do Brasil e o processamento de pescado produz grande quantidade de resíduos. Logo, é crescente a preocupação no sentido de minimizar seu impacto ambiental e estudos são realizados com objetivo de agregar valor a estes resíduos, uma vez que também são fonte de ácidos graxos ômega-3. A obtenção de óleo de peixe empregando a tecnologia de extração com CO₂ supercrítico (ESC), por se tratar de uma tecnologia limpa, pode ser uma alternativa para o aproveitamento destes resíduos. Mais além, a ESC é uma tecnologia versátil, pelo ajuste da densidade do solvente em função das condições operacionais empregadas. O estudo da cinética da ESC aliada aos efeitos das variáveis de extração, permitem a otimização do processo. No que diz respeito à sua aplicação industrial, o estudo da ampliação de escala (AE) é necessário para a escolha dos critérios de ampliação. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência da secagem no teor de ômega-3 no resíduo de pescada-olhuda, além de empregar a ESC para obtenção de óleo avaliando-se a influência da pressão e temperatura do processo no rendimento e qualidade dos extratos, estudar a AE e por fim realizar a estimativa de custos da ESC. Os resíduos foram obtidos no Mercado Público de Florianópolis e foram submetidos à secagem em estufa com circulação em diferentes condições de tempo e temperatura. O resíduo seco foi submetido aos ensaios de extração Soxhlet e ESC em diferentes condições e o rendimento global e concentração de ácidos graxos dos extratos foram avaliados. Experimentos cinéticos foram conduzidos para verificar o efeito da vazão de CO₂ nos parâmetros cinéticos de modelagem. Para a AE foi empregado o critério de extração limitada pela difusividade e a viabilidade econômica do processo de ESC foi estudada com auxílio de um software. Os resultados indicaram que o processo de secagem nas condições otimizadas não promoveu oxidação do ômega-3. Não foi verificada influência da temperatura e pressão de ESC no rendimento global e concentração de ômega-3 nos extratos. Por outro lado, os extratos coletados ao longo da extração apresentaram diferença significativa no perfil de ácidos graxos, e quanto maior o tempo, maior a porcentagem de ômega-3. A proposta de manutenção da razão Q_{CO_2}/M mostrou-se adequada, logo, a convecção apresenta-se como principal mecanismo de transferência de massa. A modelagem da AE permitiu prever a curva de extração em escala maior e os

resultados da estimativa de custo indicam que o processo é viável economicamente, com o menor custo obtido aos 30 min de ESC.

ABSTRACT

Pescada-olhuda is an important fishery resource in southern Brazil and fish processing produces large quantities of waste. As a consequence, there is growing concern in order to minimize their environmental impact and studies are made to add value to this waste, since they are also sources of omega-3. The extraction of fish oil using the supercritical CO₂ (SFE), since this is a clean technology, may be an alternative application of these residues. Further, SFE is a versatile technology, since the density of the solvent can be controlled as a function of the operating conditions employed. The study of extraction kinetics coupled with the effects of extraction parameters allows optimization of the process. Regarding to its industrial application, the study of scale up is required to choose the criteria for scale up. Thus, the objective of this work was to study the influence of the drying process on the content of omega-3 in pescada-olhuda waste, besides using SFE to obtain oil by assessing the influence of process pressure and temperature on yield and extracts quality, to study the scale up and, finally, to estimate the cost of the process. The waste was obtained at the Public Market of Florianopolis and was dried in an oven in different time and temperature conditions. Kinetic experiments were performed to evaluate the effect of CO₂ flow rate in the kinetic modeling parameters. The scale up criterion used was for extraction limited by diffusivity and economic viability of the SFE process was studied with the aid of a software. The results indicated that the drying process under the optimal conditions did not promote oxidation of omega-3. There was no effect of temperature and pressure in SFE global yield and concentration of omega-3 in the extracts. Moreover, the extracts collected during the extraction showed significant differences in fatty acid profile, and the higher the time, a higher percentage of omega-3. The proposal to maintain constant the ratio Q_{CO_2}/M proved to be adequate, so convection presents itself as the main mechanism of mass transfer. The modeling allowed prediction of the larger scale curve and the results of cost estimation indicate that the process is economically viable, with the lowest cost obtained at 30 min of SFE.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
2	OBJETIVOS.....	27
	2.1 Objetivo geral.....	27
	2.2 Objetivos específicos	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
	3.1 Pescada-olhuda (<i>Cynoscion striatus</i>)	29
	3.2 Resíduos do processamento de pescado.....	29
	3.3 Composição e valor nutritivo do pescado	30
	3.4 Ácidos graxos ômega-3.....	31
	3.5 Oxidação lipídica em pescados	32
	3.6 Métodos para determinação da oxidação lipídica	34
	3.7 Extração supercrítica (ESC).....	36
	3.8 ESC de óleo de peixe	39
	3.9 Modelagem matemática	41
	3.9.1 Aplicação da 2ª Lei da Difusão de Fick	41
	3.9.2 Modelo de Sovová (1994)	43
	3.9.3 Modelo de Martínez et al. (2003)	45
	3.10 Ampliação de escala	46
	3.11 Análise da viabilidade econômica.....	48
4	MATERIAL E MÉTODOS	51
	4.1 Coleta da matéria-prima.....	51
	4.2 Pré-processamento	51
	4.3 Caracterização da matéria-prima	52
	4.4 Otimização do processo de secagem da matéria-prima	52
	4.5 Técnicas de extração dos lipídios.....	54

4.5.1	Extração Soxhlet	54
4.5.2	Extração Supercrítica	55
4.6	Análise de estimativa de custos	62
4.7	Análises químicas	64
4.7.1	Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis ..	64
4.7.2	Resíduo mineral fixo	65
4.7.3	Determinação do teor de proteína bruta	65
4.7.4	Extração de lipídios totais	66
4.7.5	Determinação das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (SRATB)	66
4.7.6	Determinação da acidez titulável	66
4.7.7	Transesterificação dos ácidos graxos	67
4.7.8	Análise cromatográfica	67
4.7.9	Quantificação dos ácidos graxos	68
4.8	Análises microbiológicas	68
4.9	Análise estatística	69
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
5.1	Otimização da secagem de resíduo de pescada-olhuda	71
5.1.1	Caracterização das APP-L1 e ASPO-L1	71
5.2	Ensaio de otimização de secagem	75
5.2.1	Caracterização da ASPO-L1	79
5.3	Extração supercrítica	83
5.3.1	Caracterização da APP-L2	83
5.3.2	Determinação do rendimento global de ESC	87
5.3.3	Cinética e modelagem da ESC	94
5.3.4	Modelagem matemática das curvas de ESC.....	96
5.3.5	Avaliação do perfil de ácidos graxos com o tempo de extração	99
5.3.6	Ampliação de escala.....	103
5.3.7	Estimativa de custos de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda.....	105

6 CONCLUSÃO.....	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
APÊNDICES.....	131

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Pescada-olhuda (<i>Cynoscion striatus</i>).....	29
Figura 2 Estruturas químicas do EPA e DHA.....	32
Figura 3 Reação da determinação das SRATB entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o complexo colorimétrico	35
Figura 4 Diagrama esquemático da extração supercrítica de matrizes sólidas.....	37
Figura 5 Curva de extração. Massa total de extrato extraído pelo tempo de extração. A Parte I é linear, Parte II é não linear e se aproxima de um valor limite, este valor é dado pela massa de extrato total extraída.....	38
Figura 6 Curva de ESC obtida pelo modelo de Sovová (1994).....	45
Figura 7 Resíduos de pescada-olhuda nas diferentes etapas de pré-processamento	52
Figura 8 Sistema de extração pelo método Soxhlet.....	55
Figura 9 Diagrama da unidade SFE Spe-ed	57
Figura 10 Gráfico de pareto para a resposta ômega-3 (%).....	78
Figura 11 Superfície de resposta da influência do tempo e temperatura na porcentagem de ácidos graxos ômega-3 na secagem em estufa de circulação de ar forçado de resíduo de pescada-olhuda ...	79
Figura 12 Isotermas de rendimento de extração supercrítica de óleo de resíduo de pescada-olhuda.....	88
Figura 13 Curvas de cinética de ESC do óleo da ASPO-L2 avaliando efeito de diferentes vazões de CO ₂	95
Figura 14 Curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 experimentais e modeladas à pressão de 200 bar, temperatura de 30 °C e vazão de CO ₂ de 3,616 g/min.....	96
Figura 15 Curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 experimentais e modeladas à pressão de 200 bar, temperatura de 30 °C e vazão de CO ₂ de 9,04 g/min.....	96
Figura 16 Rendimento da extração de ômega-3 ao longo do tempo de extração a 200 bar, 30 C e 18,08 g CO ₂ /min	102

Figura 17 Curvas experimentais e modeladas para a proposta Q_{CO_2}/M constante de ampliação de escala (EG) e escala pequena (EP) para a extração de resíduo seco de pescada	103
Figura 18 Custo específico do óleo de resíduo de pescada-olhuda em função do tempo de ESC à 30 °C e 200 bar e fabricante das unidades	109
Figura 19 Diagrama de porcentagem de custos estimados do processo de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda para um extrator de procedência chinesa de 2 x 500 L operando durante 30 min a 200 bar e 30 °C.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Planejamento experimental fatorial completo 3^2 , com as variáveis temperatura (T) e tempo (t), variando em três níveis para o processo de secagem em estufa de circulação de ar forçado.....	53
Tabela 2 Planejamento fatorial completo 3^2 , com as variáveis pressão (P) e temperatura (T), variando em três níveis.....	59
Tabela 3 Custo estimado pela regra do six-tenth (Turton et al., 2003) dos equipamentos no mercado americano e chinês.....	64
Tabela 4 Composição centesimal (g/100 g) da APP-L1	71
Tabela 5 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da APP-L1.....	73
Tabela 6 Resultados das análises microbiológicas da APP-L1	74
Tabela 7 Teores de umidade (%) e somatório de ômega-3 (% relativa) obtidos nos experimentos de secagem em estufa de circulação de ar forçado variando a temperatura (T) e tempo (t)	76
Tabela 8 ANOVA para os resultados da porcentagem ômega-3 em função das variáveis temperatura (T) e tempo (t).....	77
Tabela 9 Composição centesimal (g/100 g) da ASPO-L1.....	80
Tabela 10 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da ASPO-L1.....	81
Tabela 11 Resultados das análises microbiológicas da ASPO-L1	82
Tabela 12 Composições centesimais (mg/g) da APP-L2 e ASPO-L2... ..	83
Tabela 13 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da APP-L2 e ASPO-L2.....	84
Tabela 14 Quantificação dos ácidos (mg/g de óleo) graxos no óleo obtido por extração Soxhlet com solvente hexano.....	86
Tabela 15 Rendimentos em óleo (X_0) em base seca e massas específicas do CO_2 (ρ) obtidos nas ESC do óleo da ASPO-L2 em função da pressão (P) e temperatura (T) à vazão de CO_2 de 0,0904 g/min	87
Tabela 16 Concentração dos ácidos graxos (mg/g de óleo) dos óleos extraídos por ESC de ASPO-L2 nas diferentes condições de temperatura (T) e pressão (P) empregadas à vazão de CO_2 de 0,0904 g/min	91

Tabela 17 Somatórios (mg/g de óleo) e razões dos ácidos graxos extraídos por ESC da ASPO-L2 nas diferentes condições de pressão (P) e temperatura (T) à vazão de CO ₂ de 0,0904 g/min	93
Tabela 18 Características do leito de partículas utilizados para a modelagem da ESC.....	94
Tabela 19 Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) dos modelos obtidos por modelagem das curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 em diferentes vazões (Q _{CO2}).....	97
Tabela 20 Perfil de ácidos graxos (porcentagem relativa) no óleo da ASPO-L2 ao longo do tempo de ESC a 200 bar, 30 °C e 18,08 g CO ₂ /min	100
Tabela 21 Somatórios (porcentagem relativa) e razões dos ácidos graxos extraídos por ESC da ASPO-L2 longo do tempo de ESC à 200 bar, 30 °C e 18,08 g CO ₂ /min	101
Tabela 22 Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) dos modelos obtidos por modelagem das curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 na pequena escala e grande escala.....	104
Tabela 23 Custos estimados do processo de ESC a 200 bar e 30 °C de resíduo de pescada-olhada avaliando tempos de extração e diferentes fabricantes das unidades.....	107
Tabela 24 Preço de mercado (US\$/kg) de óleo de peixe de diferentes fornecedores.....	111

NOMENCLATURA

A_p	Área do padrão interno
AT	Acidez total titulável
A_x	Área do ácido graxo x
b	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003) (s^{-1})
C	Concentração do extrato (g/g ou kg/kg)
C_0	Concentração inicial de extrato (g/g ou kg/kg)
CER	Etapa de taxa constante de extração
CMP	Custo da matéria-prima (US\$)
COP	Custo com operadores (US\$)
CTR	Custo com tratamento de resíduos (US\$)
CUM	Custo de manufatura (US\$)
CUT	Custo de utilidades (US\$)
C_x	Concentração do ácido graxo x (mg/g de lipídio)
D	Coefficiente de difusão (2ª Lei de Fick) (m^2/min)
d	Diâmetro do leito de extração (cm)
-	
\bar{d}_i	Diâmetro médio da peneira i (cm)
-	
\bar{d}_s	Diâmetro médio superficial das partículas (cm)
F	Fator da solução de hidróxido de sódio
F_{cea}	Fator de conversão de metil éster para ácido graxo
F_{ct}	Fator de correção (do detector de ionização chama) teórico do ácido graxo
FER	Etapa de taxa decrescente de extração
FRI	Fração de investimento (US\$)
h	Coordenada axial (m)
H	Comprimento total do leito (m)
J (X,Y)	Fluxo de transferência de massa interfacial
$k_{x,a}$	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida (s^{-1})
$k_{y,a}$	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida (s^{-1})
M	Massa total de amostra (g ou kg)
m_0	Massa inicial do extrato (g ou kg)
M_a	Massa da amostra de lipídios totais (g)
m_{ext}	Massa do extrato (g ou kg)
m_f	Massa final de amostra (g)

m_i	Massa de amostra retida na peneira i (g)
m_{ia}	Massa inicial de amostra (g)
M_p	Massa do padrão interno (mg)
m_{solv}	Massa de solvente (g ou kg)
n	Número inteiro
nf	Número total de frações.
P	Massa da amostra (g)
Q_{CO_2}	Vazão do solvente (g/min ou kg/h)
r	Raio da partícula sólida (m)
t	Tempo (s ou min)
t_{CER}	Duração da etapa CER (s)
t_{FER}	Duração da etapa FER (s)
t_{mi}	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003) (s)
U	Velocidade superficial do solvente (m/s)
v	Volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação (mL)
X	Concentração do extrato na fase sólida (g/g ou kg/kg)
X_0	Rendimento global da extração (%)
X_k	Razão mássica de soluto de difícil acesso (g/g ou kg/kg)
Y	Concentração do extrato na fase fluida (g/g ou kg/kg)
Y^*	Concentração de equilíbrio (solubilidade) ($kg_{\text{óleo}}/kg_{\text{solvente}}$)
ε	Porosidade do leito
ρ	Massa específica do solvente (g/cm^3 ou kg/m^3)
ρ_a	Massa específica aparente do sólido (g/cm^3 ou kg/m^3)
ρ_r	Massa específica real do sólido (g/cm^3 ou kg/m^3)
τ_{res}	Tempo de residência do solvente no leito (s)

1 INTRODUÇÃO

Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 têm ganhado importância significativa nas últimas décadas, à medida que seus efeitos benéficos na saúde humana foram estudados e comprovados. Estes compostos, juntamente com os ácidos graxos ômega-6 são considerados essenciais, uma vez que não podem ser sintetizados pelo organismo humano (HORNSTRA, 2001). Os principais ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa são os ácidos eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3).

Estudos recentes reportam que as razões entre os ácidos graxos n-6 e n-3 nas dietas ocidentais, nas quais são consumidas grandes quantidades de gordura saturada, podem chegar a 25:1 (FERNÁNDEZ-SAN JUAN, 2000), enquanto que na dieta oriental e mediterrânea (caracterizadas pelo alto consumo de peixes e azeites), este valor é cerca de 2:1 (KAMEI et al., 2002; AMBRING et al., 2006). A WHO/FAO (1994) sugere que a razão n-6/n-3 ideal, em termos nutricionais, deve ser menor ou igual a 5:1. Para manter uma razão n-6/n-3 a níveis seguros, recomenda-se a ingestão de peixes e vegetais de folhas verdes. Entretanto, existe muita resistência à mudança de hábitos alimentares de uma população e alternativas para a inclusão de ômega-3 nas dietas carentes deste nutriente têm sido exaustivamente estudadas.

Com base nas informações expostas, existe um grande interesse no desenvolvimento de novas tecnologias limpas para a obtenção de concentrados de ácidos graxos ômega-3 a partir de peixes, principalmente em termos ambientais e de qualidade do extrato obtido (MOHAMED; MANSOORI, 2002) e muitos estudos nesta área estão sendo realizados.

Rubio-Rodríguez et al. (2009a) afirma que os métodos mais promissores de produção de concentrados de ácidos graxos ômega-3 são a extração com fluido supercrítico (ESC), geralmente com CO₂ como o solvente e os métodos enzimáticos.

O uso da tecnologia de extração com CO₂ supercrítico para a obtenção de lipídios tem ganhado grande atenção (SAHENA et al., 2009a). Isto se deve principalmente as vantagens que esta técnica apresenta em relação às tecnologias convencionais (como a extração com solventes e prensagem mecânica), como melhor retenção de compostos aromáticos e termossensíveis, além de não gerar resíduos com solventes orgânicos (NORULAINI et al., 2009; HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006), sendo considerada uma tecnologia

limpa. Mais além, a extração com fluido supercrítico explora as propriedades dos solventes acima de seus pontos críticos, tais como alta massa específica, difusividade intermediária entre gases e líquidos e baixa viscosidade, com a finalidade de extrair componentes a partir da matéria-prima. O CO₂ tem como vantagens possuir uma temperatura crítica amena (31,1 °C), ser atóxico, não inflamável e altamente disponível, principalmente como subproduto de outras indústrias.

O maior obstáculo ao uso da tecnologia supercrítica na indústria é a viabilidade econômica do processo, devido ao alto investimento necessário para a instalação de uma unidade de ESC. Seu alto custo é devido principalmente aos equipamentos e acessórios em aço inoxidável e pela necessidade de serem resistentes às altas pressões empregadas no processo.

Por outro lado, a minimização do custo é possível através da otimização do processo, que envolve o dimensionamento do equipamento e a definição das condições operacionais (MEIRELES, 2003). A otimização de operações com fluidos supercríticos requer o conhecimento dos fatores que afetam o rendimento, a seletividade e, portanto, a viabilidade econômica de um processo de extração com CO₂ pressurizado. Esta viabilidade também depende da qualidade do produto obtido, que vai indicar a sua aplicabilidade e valor de mercado. Para tanto, uma avaliação dos extratos é fundamental para se ter o máximo conhecimento do potencial econômico e da seletividade de um processo.

A modelagem matemática também é de grande valia para a otimização da ESC. O estudo da cinética de extração destes processos pode ser realizado empregando-se modelos matemáticos que representam curvas globais de extração (MARTÍNEZ, 2005) e permitem a predição do comportamento do sistema e conseqüentemente da taxa de extração em escala maior, fornecendo parâmetros importantes para projetos de unidades industriais.

Apesar de a ESC ainda não ser utilizada industrialmente para a produção de óleo de peixe, existem boas perspectivas para sua utilização futura. É bem estabelecido que produtos de alto valor agregado, como óleos essenciais, dão retorno ao alto investimento requerido para a implementação da ESC (TEMELLI, 2009). Concentrados de ômega-3 também apresentam um alto valor comercial, o que pode viabilizar sua produção com esta tecnologia, além da possibilidade da utilização de resíduos de processamento de pescado como matéria-prima o que diminuiria os custos de produção e utilizaria um subproduto altamente poluente em função de sua carga orgânica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi estudar o aproveitamento de resíduos de filetagem de pescada-olhuda (*Cynoscion striatus*) visando à obtenção de um óleo rico em ácidos graxos ômega-3 empregando a extração com CO₂ supercrítico.

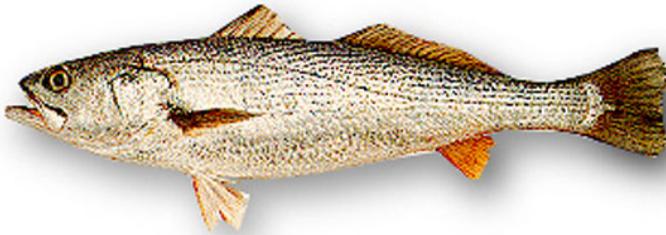
2.2 Objetivos específicos

- i. Determinar a composição centesimal e quantificar os ácidos graxos do resíduo de pescada-olhuda;
- ii. Estudar a influência das variáveis tempo e temperatura de secagem em estufa de circulação de ar forçado no teor de ômega-3 da amostra e propor um método de secagem que minimize as perdas dos ácidos graxos ômega-3;
- iii. Avaliar a influência das condições operacionais de temperatura e pressão na ESC do óleo de pescada-olhuda;
- iv. Comparar e avaliar a técnica de extração Soxhlet com a ESC, em termos de rendimento e qualidade dos extratos (composição em ácidos graxos e índice de acidez);
- v. Caracterizar os óleos obtidos pelas diferentes técnicas (Soxhlet e ESC) de extração quanto à composição em ácidos graxos;
- vi. Estudar a cinética do processo de ESC de óleo de pescada-olhuda empregando modelos matemáticos descritos na literatura;
- vii. Aplicar um método de ampliação de escala baseado no mecanismo dominante de transferência de massa;
- viii. Estimar os custos de um processo industrial de extração supercrítica de resíduo de pescada-olhuda.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Pescada-olhuda (*Cynoscion striatus*)

A pescada-olhuda, *Cynoscion striatus* (Figura 1), distribui-se no Atlântico Sul-Occidental desde o litoral do Rio de Janeiro, no Brasil até o Golfo de San Matías, na Argentina (MENEZES; FIGUEIREDO, 1980). No Brasil também é conhecida como “maria-mole” ou ainda “pescada”. No Uruguai seu nome mais comum é “pescadilla la calada” e na Argentina “pescadilla de red” ou “pescadilla”. Esta espécie é capturada comercialmente desde Bahía Blanca, Argentina, até o Norte do Rio Grande do Sul, principalmente com redes de arrasto de fundo (VIEIRA; HAIMOVICI, 1993).



Fonte: FAO, 2010

Figura 1 Pescada-olhuda (*Cynoscion striatus*)

Entre os recursos costeiros da zona comum de pesca argentino-uruguaia, *Cynoscion striatus* é considerada a segunda espécie em importância, depois da corvina (*Micropogonias furnieri*), sendo capturada por arrasteiros de fundo nas quatro estações do ano (NION, 1985; CORDO, 1986).

3.2 Resíduos do processamento de pescado

A captura de peixes marinhos contribui com mais de 50 % do total da produção mundial de peixes e cerca de 70 % desta produção é utilizada para processamento. Estimativas revelam que o descarte atual proveniente de atividades pesqueiras excede a marca de 20 milhões de

toneladas, equivalente a 25 % da produção mundial total de peixes marinhos (FAOSTAT, 2001).

No Brasil, o aproveitamento de resíduos de pescados é pequeno. Aproximadamente 50 % da biomassa no país são descartadas durante o processo de enlatamento ou em outras linhas de produção, como a filetagem (PESSATTI, 2001). De acordo com a análise dos atuais destinos dos resíduos declarados por empresas do sul do Brasil, foi relatado que 68 % destes são encaminhados às indústrias de farinha de pescado, 23 % são encaminhados a aterros sanitários municipais e 9 % são despejados diretamente nos rios, constituindo assim um grave impacto ambiental (STORI; BONILHA; PESSATTI, 2002). Estima-se também que nas regiões sul e sudeste de 30 % a 40 % das capturas de pesca sejam rejeitadas nos barcos, mesmo antes de chegar às indústrias de processamento (PESSATTI, 2004).

A expansão mundial das atividades de pesca, em especial a criação de peixes marinhos em cativeiros, tem causado crescente preocupação quanto ao seu impacto ambiental (LUPATSCHEK; KATZ; ANGEL, 2003). Em geral, os processos industriais são acompanhados de resíduos que podem representar riscos significativos para o meio ambiente. Tecnologias capazes de tratar esses resíduos, ou recuperar compostos orgânicos de interesse econômico, antes de serem descartados, são necessárias para diminuir a poluição (QUITAIN et al., 2001). O crescimento da produção de pescados nas últimas três décadas aumentou consideravelmente a consciência por parte da sociedade e industriais quanto aos impactos ambientais dos resíduos de pescado (IWAMA, 1991; ERVIK et al., 1997; HANSEN et al., 2001).

Sendo assim, muitas pesquisas são realizadas no sentido de agregar valor aos resíduos gerados, como sua utilização para formulação de ração animal (KOTZAMANIS et al., 2001), biodiesel (KATO et al., 2004; WISNIEWSKI et al., 2010), extração de óleo e proteínas para indústria de alimentos e cosméticos (AOKI et al., 2004; LÉTISSE et al., 2006; NAGAI; SUZUKI, 2000).

3.3 Composição e valor nutritivo do pescado

O pescado constitui-se de uma importante fonte alimentar, graças ao seu valor nutritivo, fácil digestibilidade, diversidade de sabores e composição equilibrada. A composição do pescado e consequentemente o seu valor nutritivo variam em função fatores como espécie, idade,

habitat, tipo de alimentação, época de captura, peso, entre outros (LUZIA et al., 2003, ALMEIDA; FRANCO, 2006).

O principal componente do músculo de pescado é a água, cuja proporção, na parte comestível, pode variar de 64 % a 90 %, seguido pela proteína de 8 % a 23 %, pela gordura, de 0,5 % a 25 %, pelos resíduos minerais, de 1 % a 2 % e por carboidratos, menos que 1 % (HART; FISHER, 1971; STANSBY, 1973). O pescado contém elevado nível de proteínas de alto valor biológico e alta digestibilidade (BADOLATO et al., 1994).

Quanto ao teor de lipídios, Ackman (1989) dividiu os peixes em quatro categorias: magros (menor que 2 % de gordura); baixo teor de gordura (2 % a 4 % de gordura); semigordo (4 % a 8 % de gordura); e altamente gordo (maior que 8 % de gordura).

Em especial, a fração lipídica de peixes marinhos apresenta composição lipídica bastante diversificada, com o teor de ácidos graxos saturados (AGS) variando de 20 % a 40 %, 15 % a 49 % para o teor de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e para os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) de 21 % a 50 %, com predominância dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3, destacando-se o EPA e o DHA (VISENTAINER et al., 2007). EPA e DHA são tipicamente encontrados em peixes marinhos e são originados dos fitoplânctons e algas, os quais constituem parte da cadeia alimentar dos mesmos.

3.4 Ácidos graxos ômega-3

Os ácidos graxos ômega-3 são ácidos graxos essenciais, uma vez que não são sintetizados pelo organismo humano. Eles desempenham importantes funções, visto que estão envolvidos em inúmeros processos metabólicos. São denominados poli-insaturados, assim como outros ácidos graxos que apresentam duas ou mais insaturações (MARTIN et al., 2006). A família ômega-3 abrange ácidos graxos que apresentam insaturações separadas por apenas por um carbono metilênico, com a primeira insaturação no terceiro carbono, enumerado a partir do grupo metil terminal (Figura 2). Os principais representantes desta família são os ácidos alfa-linolênico (LNA, 18:3 n-3), EPA e DHA.

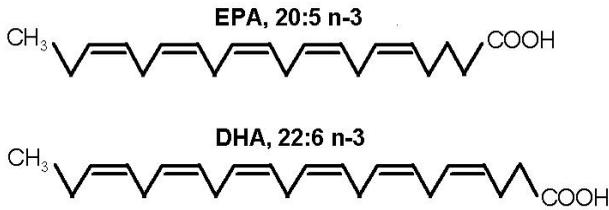


Figura 2 Estruturas químicas do EPA e DHA

Resultados de pesquisas nos últimos anos permitiram esclarecer alguns fatos, tais como: a necessidade de EPA e DHA, especialmente o DHA, para as membranas biológicas, retina, córtex cerebral, tecidos nervosos, testículos e plaquetas sanguíneas (SCHMIDT, 2000; NETTLETON, 1995) e a importância do EPA pelos seus efeitos em nível vascular (ações antitrombóticas e anti-inflamatórias) exercidos através do metabolismo dos eicosanóides (MUELLER; TALBERT, 1988). A necessidade dos AGPI de cadeia longa, pertencentes às famílias n-3 e n-6, para a rigidez das membranas biológicas ficou completamente comprovada (BELDA; CAMPOS, 1991).

Estudos antropológicos, epidemiológicos e em nível molecular indicam que os seres humanos evoluíram de uma dieta com razão entre os ácidos graxos essenciais ômega-6 e ômega-3 (n-6/n-3) de aproximadamente 1, enquanto nas dietas ocidentais essa razão é de 15:1 a 16,7:1 (EATO; KONNER, 1985; SIMOPOULOS, 1991). As altas razões n-6/n-3 das dietas atuais são responsáveis pelo desenvolvimento de muitas doenças, como as cardiovasculares, câncer, osteoporose, doenças inflamatórias e autoimunes, enquanto o aumento da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 exercem efeitos supressivos (SIMOPOULOS, 2006). Como consequência, a inclusão de AGPI n-3 no enriquecimento de produtos alimentícios começou a ser estudada (KOLANOWSKI; SWIDERSKI; BERGER, 1999) e produtos desta natureza já são comercializados.

3.5 Oxidação lipídica em pescados

O pescado é altamente perecível devido às características intrínsecas a sua carne, como elevada atividade de água, composição química, presença de ácidos graxos poli-insaturados altamente

susceptíveis a oxidação e principalmente pH próximo da normalidade (MELO FRANCO; LANDGRAF; 1996).

A deterioração do pescado se instala logo após a morte e avança com o tempo de exposição e estocagem do produto, sendo que a velocidade de decomposição depende de fatores exógenos (manipulação, manejo de abate, processamento e condição de estocagem) e endógenos (características físico-químicas do peixe) (OETTERER, 1998). Esses processos oxidativos envolvem a atividade enzimática, a rancificação de gorduras e a ação de micro-organismos presentes em sua superfície, guelras e trato intestinal (LEITÃO, 1994).

De maneira geral, os principais mecanismos de oxidação envolvidos na deterioração lipídica de pescados são a fotoxidação, autooxidação e em especial a oxidação enzimática (ALLEN; HAMILTON, 1983).

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de sensibilizadores (clorofila, mioglobina, etc.) e envolve a participação de um oxigênio singlete (1O_2) como intermediário reativo. Este processo envolve reações radicalares, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (ALLEN; HAMILTON, 1983).

A autooxidação é um processo dinâmico que evolui ao longo do tempo de estocagem. Trata-se de um fenômeno bastante complexo envolvendo reações radicalares capazes de auto-propagação, e que dependem do tipo de ação catalítica (temperatura, íons metálicos, radicais livres, pH). No decurso da sequência reacional, classicamente dividida em iniciação, propagação e terminação, é possível distinguir três etapas de evolução oxidativa (LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990; BERSET; CUVELIER, 1996): 1) desaparecimento dos substratos de oxidação (oxigênio e lipídio insaturado); 2) aparecimento dos produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos); 3) aparecimento dos produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis), cuja natureza e proporção dependem de diversos parâmetros.

A oxidação enzimática ocorre principalmente por catálise enzimática, nomeadamente por ação da lipoxigenase. Esta enzima atua sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbônica poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, os quais podem envolver-se em diferentes reações degradativas, semelhantes às observadas para os processos de

autooxidação, originando diversos produtos (HALLIWELL et al., 1995). Um aspecto importante da atuação da lipoxigenase é o que se relaciona com a sua capacidade para co-oxidar substratos (carotenóides, tocoferóis, clorofila, proteínas, etc.), sendo responsável pela iniciação de novos processos oxidativos (ALLEN; HAMILTON, 1983).

Sendo assim, a oxidação lipídica é o processo primário de deterioração da qualidade dos peixes, ocasionando alterações de aroma, cor, textura, valor nutricional (principalmente pela degradação dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3) e possível produção de compostos tóxicos (JENSEN; LAURIDSEN; BERTELSEN, 1998) afetando a sua aceitabilidade para consumo (NOGALA-KALUCKA et al., 2005) e qualidade para posteriores etapas de processamento.

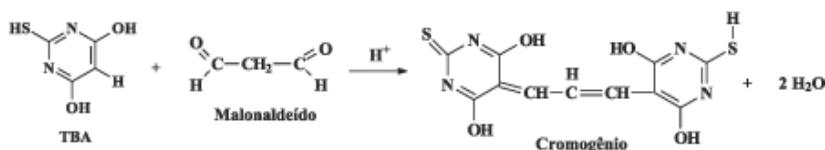
3.6 Métodos para determinação da oxidação lipídica

Uma vez que a oxidação lipídica está intimamente relacionada com a qualidade do pescado, torna-se importante a utilização de métodos químicos para quantificar a formação dos compostos resultantes da oxidação lipídica, como a determinação dos valores de peróxido, dienos conjugados (produzidos nos primeiros estágios da autooxidação), índice de acidez (detecção de ácidos graxos livres), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB), teste de Kreis, HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência), quantificação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa, entre outros (JARDINE et al., 2002). Dentre eles existem vantagens e desvantagens, porém os mais simples e rápidos são baseados na quantificação de pigmentos medidos espectrofotometricamente (GRAU et al., 2000). Serão discutidos a seguir os métodos de determinação de oxidação lipídica empregados neste trabalho.

De acordo com Melton (1983) e Igene et al. (1985), a determinação das SRATB é um dos mais utilizados para a determinação da oxidação lipídica, sendo que a substância reativa ao ácido tiobarbitúrico presente em maior quantidade é o malonaldeído (MDA) (KAMAL-EDIN; APPELQVIST, 1996), um dialdeído derivado do hidroperóxido. Porém, existem outros produtos da oxidação dos lipídios, tais como aldeídos insaturados e vários precursores não voláteis não identificados que também reagem como o ácido tiobarbitúrico (TBA). Por essa razão parece preferível falar em “substâncias que reagem com o TBA” (ALLEN; HAMILTON, 1983). A reação da determinação das SRATB envolve uma molécula de MDA que reage com duas moléculas

de TBA, eliminando mais duas moléculas de água, formando um pigmento cristalino rosa com absorvância entre 532 a 535 nm (HOYLAND; TAYLOR, 1991) (Figura 3).

A determinação das SRATB também possui correlação positiva entre seus valores e o escore de rancificação avaliado pela análise sensorial, sendo apropriado para a determinação do estado de oxidação lipídica em alimentos (HOYLAND; TAYLOR, 1991).



Fonte: Adaptado de OSAWA et al. (2005)

Figura 3 Reação da determinação das SRATB entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o complexo colorimétrico

Outra forma de avaliar a oxidação lipídica é pelo estudo da cinética de desaparecimento dos ácidos graxos presentes na matriz, geralmente efetuado por cromatografia gasosa (CG), após extração e transesterificação. Os resultados desta análise são apresentados como um cromatograma, no qual os picos devem ser identificados com padrões pelo tempo de retenção, por espectrometria de massas ou valores de ECL (equivalent chain length) e a quantificação absoluta pela adição de padrão interno. A dificuldade do método reside em garantir a extração quantitativa da matéria graxa e em minimizar as perdas ao longo da preparação de derivados (BERSET, 1996).

O nível de ácidos graxos residuais não oxidados pode igualmente ser estimado pela determinação da acidez. Trata-se de uma técnica volumétrica ácido-base que compreende a neutralização, com uma solução padrão de hidróxido de potássio ou sódio, de uma amostra rigorosamente pesada. Os ácidos graxos livres são frequentemente expressos em termos de índice de acidez, podendo sê-lo também em mL de solução normal por cento ou em g do componente ácido principal, geralmente o ácido oléico.

Segundo o Instituto Adolfo Lutz (2005), a determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons

hidrogênio. A decomposição dos triacilgliceróis é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez geralmente acompanhada pela formação de ácidos graxos livres.

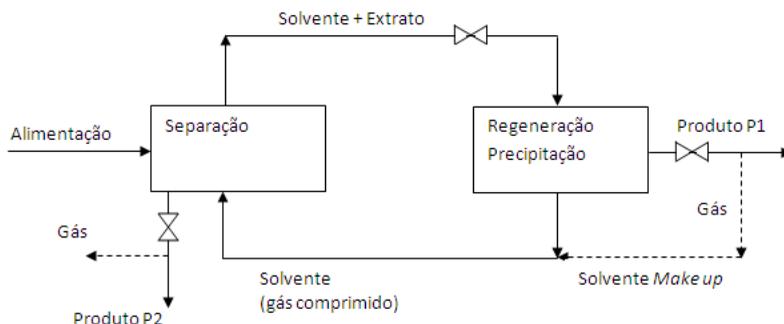
3.7 Extração supercrítica (ESC)

A ESC é uma tecnologia alternativa de extração e tem sido empregada para a obtenção de extratos de alto valor agregado a partir de matrizes vegetal e animal, tanto industrialmente como na área acadêmica, especialmente para os setores de alimentos, fármacos e de cosméticos (QUISPE-CONDORI et al., 2005; ESQUÍVEL et al., 1997).

Os solventes empregados na ESC são gases pressurizados e o extrato obtido por este processo é isento de solvente, diferenciando-se assim das outras técnicas de extração. A ESC é um processo flexível que permite o controle da seletividade do solvente supercrítico, não necessita da utilização de solventes orgânicos poluentes e descarta etapas onerosas de processamento do extrato para eliminação do solvente (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

O dióxido de carbono (CO_2) é o solvente supercrítico mais empregado por apresentar as seguintes vantagens: seguro, abundante e de baixo custo, além de permitir operações de extração supercrítica a pressões relativamente baixas e próximas à temperatura ambiente. Devido a sua natureza apolar, dissolve preferencialmente compostos apolares, entretanto substâncias de alta polaridade também podem ser extraídas com CO_2 supercrítico em altas densidades (altas pressões) e/ou pelo o emprego de co-solventes, com os quais é possível aumentar o espectro de substâncias solúveis ao CO_2 (VASAPOLLO et al., 2004).

A seletividade é uma das principais características da ESC e pode ser controlada mediante o ajuste das condições de temperatura e pressão do processo dentro da região supercrítica. A definição das condições de extração (temperatura e pressão) indica o poder de solvatação do solvente e, quanto maior o poder de solvatação, maior a solubilidade de um determinado composto, assim como o número de compostos solubilizáveis de uma mistura. Desta forma, a alta solubilidade significa baixa seletividade e vice-versa (FRANÇA et al., 1999; BRUNNER, 1994) sendo que a definição da seletividade do solvente ou de misturas de solventes através das condições de processo determinam a qualidade dos extratos. A extração supercrítica de matrizes sólidas, esquematicamente representada na Figura 4, consiste basicamente de duas etapas: extração e separação da mistura soluto/solvente.



Fonte: Adaptado de Brunner (1994).

Figura 4 Diagrama esquemático da extração supercrítica de matrizes sólidas

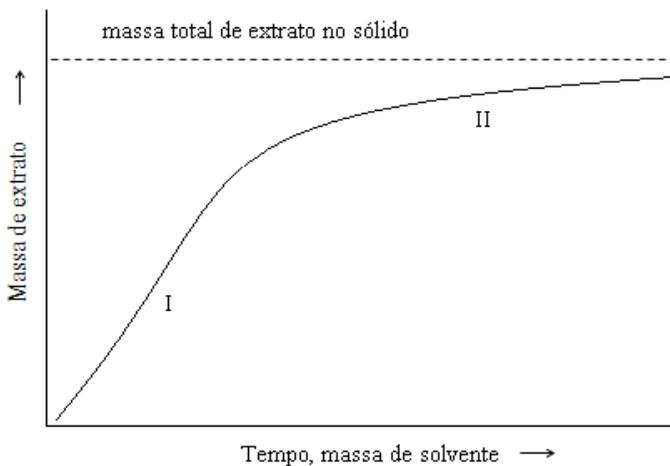
No processo de extração supercrítica de sólidos, o solvente escoar através de um leito fixo constituído das partículas do material, solubilizando componentes ali presentes. O esgotamento do sólido ocorre na direção do escoamento, enquanto a massa de extrato na fase solvente aumenta na mesma direção. O solvente atravessa o leito fixo saindo carregado de soluto e, na saída do extrator, passa através de uma válvula de expansão, passando ao estado gasoso e, finalmente, o soluto é coletado (BRUNNER, 1994; REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Os fluidos no estado supercrítico apresentam altas massas específicas (próximas às de líquidos, de 60 kg/m^3 a 1000 kg/m^3), difusividade intermediária entre gases (de $0,1 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{s}$ à $0,4 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{s}$) e líquidos (de $0,2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ a $2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$) e viscosidades baixas, características dos gases ($1 \times 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m}\cdot\text{s})$ a $3 \times 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m}\cdot\text{s})$) (BRUNNER, 1994; DÍAZ-REINOSO et al., 2006). Estas propriedades tornam altas as taxas de extração e rendimentos da ESC, uma vez que as altas massas específicas conferem grande poder de solvatação, enquanto os baixos valores de viscosidade combinados com valores de difusividade fornecem alto poder de penetração na matriz sólida (AGHEL et al., 2004; TSAO; DENG, 2004).

Parâmetros importantes na ESC são vazão de solvente, tamanho de partícula de sólido e tempo de extração. Outros fatores determinantes do processo de extração são o poder de solubilização e a seletividade do solvente quanto aos componentes de interesse e a capacidade de difusão destes no fluido supercrítico. A seleção correta destes parâmetros é

crucial para a otimização da extração dos compostos desejados em menor tempo (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

As curvas de extração obtidas em processos com fluidos supercríticos são determinadas pela massa de extrato obtida em função do tempo ou da massa de solvente utilizada. A Figura 5 apresenta uma curva esquemática de extração supercrítica, sendo que a primeira parte da curva (I), aproximadamente linear, corresponde à taxa constante de extração e a segunda parte (II) aproxima-se de um valor limite que é dado pela massa total de substâncias extraíveis do sólido (BRUNNER, 1994).



Fonte: Adaptado de Brunner (1994)

Figura 5 Curva de extração. Massa total de extrato extraído pelo tempo de extração. A Parte I é linear, Parte II é não linear e se aproxima de um valor limite, este valor é dado pela massa de extrato total extraída

A curva de ESC pode ser utilizada na determinação de parâmetros como: tempo de ESC, caracterização das etapas de ESC, determinação da solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2004).

3.8 ESC de óleo de peixe

O método mais empregado atualmente para a obtenção de óleo de peixe em escala industrial é prensagem úmida, conforme descrito pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 1986). De maneira geral, bons rendimentos são obtidos quando se emprega este método em matérias primas que apresentam alto conteúdo lipídico, entretanto quando o teor lipídico é baixo, o processo de separação da emulsão óleo-água pode se tornar oneroso, em função da alta estabilidade da micela (RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2009b).

Desta forma, existe um grande interesse no desenvolvimento de novas tecnologias para a obtenção de óleo de peixe a partir dos resíduos de processamento, principalmente em termos ambientais e de qualidade do extrato obtido (MOHAMED; MANSOORI, 2002) e vários grupos de pesquisa têm se dedicado a esse propósito.

Segundo Rubio-Rodríguez et al. (2009a), os métodos mais promissores de produção de concentrados de ácidos graxos ômega-3 são a extração com fluido supercrítico (ESC) com CO₂ como solvente e os métodos enzimáticos (extração proteolítica).

Em meados da década de 80, iniciaram-se os estudos com utilização da tecnologia de ESC com CO₂ supercrítico para a obtenção de ácidos graxos poli-insaturados a partir de músculo de peixes e posteriormente com resíduos do processamento de pescado. Nesta época também foram realizados estudos com dados de equilíbrio de fases de sistemas com óleo de peixe ou compostos derivados em CO₂ supercrítico.

Em 1988, Hardardottir e Kinsella, utilizaram CO₂ supercrítico com e sem etanol como co-solvente para a extração de lipídios e colesterol de músculo de pescado. Eles observaram que a ESC com e sem co-solvente extraiu 97 % e 78 % dos lipídios, respectivamente.

Temelli, LeBlanc e Fu, em 1995, otimizaram a extração supercrítica com CO₂ de óleo a partir de músculo de merluza pela variação de temperatura e pressão de extração e concluíram que o binômio 345 bar e 35 °C resultou em maior rendimento e concentração de ômega-3 no extrato.

Dois anos depois, Esquível et al. (1997) publicaram um estudo sobre extração de óleo de músculo de sardinha empregando ESC. Foram realizados experimentos variando-se a pressão de 126 bar a 180 bar e a temperatura de 40 °C a 48 °C. Os resultados indicaram que o rendimento da extração aumentou com o aumento da pressão, diminuiu

com o aumento da temperatura e não foi influenciado pelo tempo de residência do solvente supercrítico.

Ainda em 1997, Dunford, Temelli e LeBlanc, estudaram a influência da umidade da amostra no rendimento da extração supercrítica de óleo a partir de músculo de merluza, sendo os teores de umidade avaliados de 3,8 %; 10,2 %; 26,0 % e 64,0 %. Quanto ao rendimento da extração, o teor de umidade 10,2 % foi o que forneceu maior rendimento (de 17 % em relação à massa inicial de amostra), não apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) do rendimento obtido ao nível de 3,8 % de umidade.

Em 1998, Dunford, Goto e Temelli publicaram um estudo com a modelagem do processo de extração supercrítica de óleo de merluza com diferentes teores de umidade. Eles observaram que a 3,7 % de umidade, a concentração do óleo no CO_2 supercrítico ficou próximo da sua solubilidade nas condições empregadas (de $2,67 \text{ kg/m}^3 \text{ CO}_2$). Um modelo matemático que considera a interação negativa entre o óleo e a água na fase supercrítica foi utilizado para simular os dados experimentais na região controlada pela solubilidade.

Data de 2006 o estudo mais antigo encontrado com a utilização de resíduos de peixe para a extração de óleo com ESC. Létisse et al. (2006) otimizaram as condições de extração (temperatura, pressão, vazão de CO_2 e tempo de extração) de óleo a partir de cabeças de sardinha. As condições otimizadas foram: pressão de 300 bar, temperatura de $75 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão de CO_2 de $2,5 \text{ mL/min}$ e tempo de extração de 45 min. Nessas condições obteve-se um rendimento de 10,36 % (em relação a massa inicial) e as porcentagens relativas de EPA e DHA no extrato foram de 10,95 % e 13,01% respectivamente.

Rubio-Rodríguez et al. (2008) estudaram a influência dos parâmetros pressão, vazão de CO_2 e sentido de escoamento do processo de ESC de resíduos de filetagem de merluza no rendimento e qualidade do extrato. Os resultados indicaram que a transferência interna de massa controlou a taxa de extração. As condições ótimas foram de 250 bar, $10 \text{ kg CO}_2/\text{h}$ e *upflow sense*, nessas condições extraiu-se mais de 96 % do total de óleo contido na matéria prima após 3 h.

Em 2008, Nei Nei et al. publicaram um estudo propondo um modelo matemático para o ajuste de curvas de extração de farinha de músculo de truta, além de avaliar o efeito da pressão, temperatura e porosidade do leito no rendimento e qualidade do extrato. Os resultados experimentais indicaram que esses parâmetros de processo têm efeito importante na eficiência da extração. Quatro propriedades físicas, o

coeficiente de transferência de massa, o coeficiente de dispersão axial, a difusividade efetiva e o coeficiente de Henry foram preditos pelo ajuste dos dados experimentais.

Sharena et al. (2010a) estudaram a ESC de óleo a partir de pele de *cavala da índia* e posteriormente a composição lipídica do óleo extraído de diferentes partes de cavala da índia utilizando ESC (SAHENA et al., 2010b).

3.9 Modelagem matemática

Utiliza-se a modelagem matemática das curvas experimentais principalmente para compreender os fenômenos que controlam o processo de ESC. A modelagem matemática de dados experimentais de ESC tem como objetivo a determinação de parâmetros para o design do processo, como dimensionamento de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula, sendo útil para a predição da viabilidade econômica de processos de ESC em escala industrial, pela simulação de curvas de extração (MARTÍNEZ et al., 2003).

Segundo Brunner (1994), o processo de extração pode ser analisado e modelado de uma maneira simples, considerando-se apenas os valores médios dos parâmetros de extração e ajustando o modelo a dados experimentais para determinar os coeficientes desconhecidos. Como resultado, tem-se equações simples, capazes de representar suficientemente as diferentes partes da curva de extração, porém podem ser ineficientes para a representação da primeira parte da curva. Para uma modelagem mais complexa é necessário realizar uma análise aprofundada dos mecanismos de extração, considerando fatores como difusão intraparticular, dispersão axial e radial, transferência de massa através da interface sólido/fluido, resistência à transferência de massa devido a reações químicas e transições de fase (BRUNNER, 1994).

Há, na literatura, modelos empíricos baseados no formato curvas de extração experimentais, mas a maioria dos modelos parte do balanço de massa do processo. Os modelos matemáticos de curvas de ESC que serão empregados neste trabalho estão apresentados a seguir.

3.9.1 Aplicação da 2ª Lei da Difusão de Fick

Para a aplicação da 2ª Lei da Difusão de Fick considera-se que as substâncias a serem extraídas encontram-se uniformemente distribuídas no interior na partícula sólida. Neste caso, a partícula sólida esférica é o

sólido que contém o óleo a ser extraído e o meio é o solvente supercrítico.

A equação diferencial parcial que governa o mecanismo de difusão de massa no interior da partícula em coordenadas esféricas é dada pela Equação 1.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (1)$$

E as condições iniciais e de contorno são dadas pelas equações (2), (3) e (4):

Condição inicial:

$$C = C_0 \quad t = 0, \quad 0 < r < R \quad (2)$$

Condições de contorno:

$$\frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad t > 0, \quad r = 0 \quad (3)$$

$$C = Y^* \quad t > 0, \quad r = R \quad (4)$$

Resolvendo analiticamente o balanço de massa na superfície interna da partícula (Equação 1), obtém-se a Equação (5), que expressa a massa de uma substância que se difunde através de uma partícula:

$$m_{ext} = m_0 \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-n^2 \pi^2 D t}{r^2}\right) \right] \quad (5)$$

onde:

C = concentração do extrato (kg/kg)

C_0 = concentração inicial de extrato (kg/kg);

Y^* = concentração de equilíbrio (solubilidade) (kgóleo/kgsolvente);

m_{ext} = massa do extrato (kg);

m_0 = massa inicial do extrato (kg);

t = tempo (min);

D = coeficiente de difusão (parâmetro ajustável) (m^2/min);

r = raio da partícula sólida (m);

n = número inteiro.

3.9.2 Modelo de Sovová (1994)

O modelo proposto por Sovová (1994) baseia-se em balanços de massa que consideram o escoamento axial do solvente com velocidade superficial através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. Considera-se que na entrada do extrator o solvente está livre de soluto e as condições de temperatura e pressão de operação são mantidas constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são consideradas homogêneas e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Devido à moagem, algumas células apresentam sua parede celular rompida tornando parte do soluto exposto ao solvente.

Neste modelo a transferência de massa interfacial ocorre de formas diferentes, dependendo da disponibilidade do soluto de fácil acesso ao solvente. Esta diferença se reflete no termo $J(X,Y)$ do balanço de massa, que representa o fluxo de transferência de massa interfacial.

O modelo de Sovová (1994) emprega o coeficiente de transferência de massa na fase fluída para descrever o período de taxa de extração constante (CER), e o coeficiente de transferência de massa na fase sólida para descrever a etapa na qual a resistência à transferência de massa é controlada pela difusão. O perfil da concentração do soluto na fase fluída é dividido em três etapas:

- a) a primeira etapa considera que o soluto de fácil acesso (X_p) disponível na superfície das partículas sólidas vai se esgotando ao longo do leito, chamada etapa CER, onde t_{CER} é o final da etapa de taxa de extração constante (s);
- b) na segunda etapa o soluto de fácil acesso vai se esgotando ao longo do leito e começa haver extração de soluto de difícil acesso, chamada etapa FER, onde t_{FER} é o final da etapa de taxa de extração decrescente (s);
- c) na terceira etapa são retirados os solutos de difícil acesso (X_k) presentes no interior das partículas sólidas - esta etapa é denominada etapa difusional, sendo controlada pela resistência interna a transferência de massa.

As equações de balanço de massa para a fase sólida e fluída é dada pelas Equações (6) e (7), respectivamente.

$$-\rho_r(1-\varepsilon)\frac{\partial X}{\partial t} = J(X,Y) \quad (6)$$

$$\rho U \frac{\partial Y}{\partial h} = J(X,Y) \quad (7)$$

As Equações (8) e (9) são as condições de contorno:

$$X(h,t=0) = X_0 \quad (8)$$

$$Y(h=0,t) = 0 \quad (9)$$

As equações para o termo $J(X,Y)$ são dadas pelas Equações (10) e (11).

$$\text{Se } X > X_k, J(X,Y) = k_y a (Y^* - Y) \quad (10)$$

$$\text{Se } X \leq X_k, J(X,Y) = k_x a X \left(1 - \frac{Y}{Y^*} \right) \quad (11)$$

onde:

$X = X(h,t)$ = concentração do extrato na fase sólida (kg/kg);

$Y = Y(h,t)$ = concentração do extrato na fase fluida (kg/kg);

h = coordenada axial (m);

t = tempo (s);

ε = porosidade do leito

ρ = massa específica do solvente (kg/m³);

ρ_r = massa específica real do sólido (kg/m³);

U = velocidade superficial do solvente (m/s).

$J(X,Y)$ = fluxo de transferência de massa interfacial (s⁻¹)

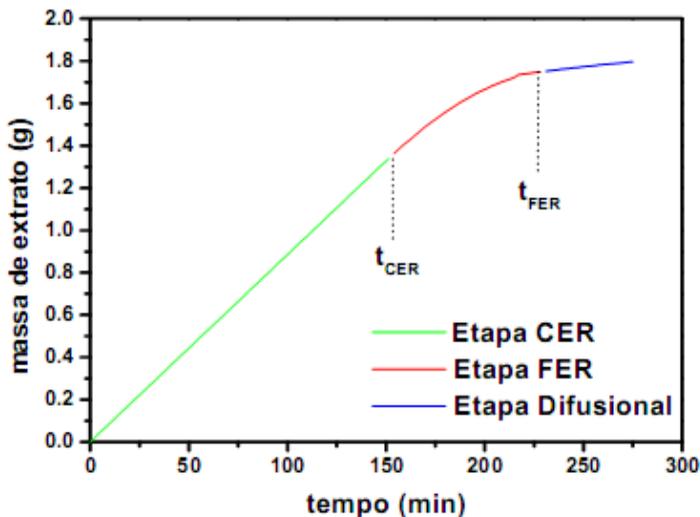
Y^* = solubilidade do soluto no solvente (kg_{óleo}/kg_{solvente});

$k_y a$ = coeficiente de transferência de massa na fase fluida (s⁻¹);

$k_x a$ = coeficiente de transferência de massa na fase sólida (s⁻¹);

E finalmente as equações do balanço de massa para as fases fluida e sólida (Equações 6 e 7), podem ser resolvidas analiticamente ou numericamente empregando as condições de contorno (Equações 8 e 9) e os termos $J(X,Y)$ (Equações 10 e 11).

A curva de ESC resultante desta solução está ilustrada na Figura 6, onde a etapa CER é período de taxa de extração constante e a etapa FER é o período de taxa de decrescente de extração.



Fonte: Martínez (2005)

Figura 6 Curva de ESC obtida pelo modelo de Sovová (1994)

3.9.3 Modelo de Martínez et al. (2003)

Extratos obtidos com tecnologia supercrítica são misturas de vários componentes, como ácidos graxos, terpenos, flavonóides, fenóis, entre outros. Há casos nos quais o processo de extração tem por objetivo obter um único composto, ou um grupo específico de compostos presentes na matéria prima, e não todos os solúveis. Pode-se exemplificar com a descafeinização de chá e café, sendo que o composto de interesse é a cafeína e com a extração de óleo de peixe, sendo os ácidos graxos ômega-3 são o grupo de compostos de interesse. A modelagem de processos de extração, neste caso, deve levar em conta a variação da composição do extrato ao longo da extração, de forma que

se possa otimizar o processo para a obtenção dos compostos de interesse (MARTÍNEZ et al., 2003).

O modelo de Martínez et al. (2003) é um modelo para sistemas multicomponentes e pode ser aplicado considerando o extrato como um pseudocomponente ou uma mistura de substâncias ou grupos de componentes com estrutura química similar. O modelo negligencia o acúmulo e a dispersão na fase fluida devido a este fenômeno não apresentar influência significativa no processo quando comparado com o efeito da convecção.

Para um único grupo de componentes, a curva de extração obtida pelo modelo de Martínez et al. (2003) pode ser representada pela Equação 12:

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{I + \exp(bt_m)}{I + \exp[b(t_m - t)]} - I \right\} \quad (12)$$

onde:

h = coordenada axial (m);

H = comprimento total do leito (m);

t = tempo (s);

m_{ext} = massa do soluto (kg);

m_0 = massa de soluto inicial (kg);

b (s^{-1}) e t_m (s) = parâmetros ajustáveis do modelo.

3.10 Ampliação de escala

No que diz respeito ao aumento de escala de processos, Berna et al. (2000) citam a importância da pesquisa em escala de laboratório a fim de facilitar o projeto de uma planta industrial, que envolva determinação das condições ótimas de funcionamento, levando em consideração a qualidade do produto, o rendimento e a economia do processo.

Quando se trata do aumento de escala para o processo de extração com fluido supercrítico, Martinez (2005) afirma que o grande desafio reside na escolha dos critérios, isto é, quais parâmetros e condições devem ser mantidos constantes, quais devem variar, e como devem variar para reproduzir em grande escala curvas de extração. Diante disso, o processo de extração SFE deve visar a otimização das variáveis tempo de extração e rendimento do processo, as quais afetam

diretamente a viabilidade econômica do processo (AL-JABARI, 2002). Portanto, é importante que se encontre as condições operacionais que maximizem a taxa de extração e a quantidade de extrato obtido de uma determinada matriz.

Os processos de ESC podem ser ampliados a partir de experimentos de laboratório através de um procedimento simples: experiências em pequena escala conduzem à definição das condições ótimas de extração mediante avaliação de diferentes pressões, temperaturas e vazões de solventes para a extração e seu efeito no rendimento e qualidade dos extratos. A ampliação do processo depende do método aplicado, que está sujeito à avaliação do controle do mecanismo de transferência de massa envolvido na extração (CLAVIER; PERRUT, 2004):

- a) Algumas extrações são limitadas pela solubilidade de extrato no fluido, sendo o solvente saturado em extrato na saída do extrator. Isto acontece, por exemplo, no caso de extração de lipídeos;
- b) Algumas extrações são limitadas pela difusão, especialmente a difusão interna, como por exemplo, a eliminação de solventes residuais de partículas ativas ou eliminação de pesticidas de matérias-primas naturais;
- c) Muitas extrações são limitadas por solubilidade e difusão.

Dependendo da complexidade e das limitações cinéticas da extração, diferentes métodos de ampliação de escala estão disponíveis para projetar uma unidade de produção (CLAVIER; PERRUT, 2004). Uma forma simples para ampliação de escala a partir de dados experimentais é manter uma ou ambas as relações de Q_{CO_2}/M (vazão de solvente/massa de alimentação) e m_{solv}/M (massa de solvente/massa de alimentação) constantes. A razão Q_{CO_2}/M é inversamente proporcional ao tempo de residência (τ_{res}) do solvente no extrator, conforme a Equação (13):

$$\tau_{res} = \frac{\epsilon \rho M}{Q_{CO_2} \rho_a} \quad (13)$$

onde:

- ε = porosidade do leito de extração;
 ρ = massa específica do solvente (kg/m^3);
 M = massa de matéria-prima alimentada (kg);
 Q_{CO_2} = vazão de solvente (kg/s);
 ρ_a = massa específica aparente do sólido (kg/m^3).

A relação Q_{CO_2}/M deverá ser conservada para extração limitada pela difusão, especialmente interna, para qual o tempo de contato da matriz com o solvente é o fator determinante e deve ser longo o suficiente para que a difusão do soluto do interior para a superfície da partícula aconteça. Assim, será necessário usar extratores muito grandes ou usar vários extratores em série para maximizar o tempo de contato, tornando possível a minimização da vazão de solvente e do consumo de energia da planta. Já a relação m_{solv}/M deve ser mantida constante no caso de extração limitada pela solubilidade do extrato. Finalmente quando tanto a difusão como a solubilidade controlam a extração, ambas as relações Q_{CO_2}/M e m_{solv}/M devem ser mantidas constantes.

Estes métodos tem a vantagem de serem simples, entretanto não levam em conta vários fatores importantes (difusão interna, dispersão axial, etc.) e não podem prever o efeito do uso de séries de extratores (CLAVIER; PERRUT, 2004).

Del Valle et al. (2004) sugerem cuidado na aplicação de procedimentos simples de aumento de escala, por causa da complexa relação entre a taxa de extração e as condições da extração, que não depende somente do coeficiente de transferência de massa externo. Particularmente, demonstraram que ocorrem diferenças no fenômeno de transferência de massa ao mudar da escala analítica para piloto, que podem ser relacionadas à heterogeneidade do escoamento no extrator, na dispersão do extrator adicional, e/ou no arraste de gotas do extrato no reciclo de CO_2 em maior escala.

3.11 Análise da viabilidade econômica

Segundo Rosa e Meireles (2005), o custo de manufatura (CUM) pode ser determinado pela soma do custo direto, do custo fixo e de despesas gerais. Os custos diretos são diretamente dependentes da taxa de produção e são compostos pelos custos da matéria-prima, dos operadores, de utilidades, etc. Os custos como taxas territoriais, seguros, depreciação, etc., não são dependentes da taxa da produção e são denominados custos fixos.

As despesas gerais são associadas à manutenção do negócio e incluem custos administrativos, de vendas, de pesquisa e desenvolvimento, entre outros. Na estimativa do CUM dos extratos obtidos por extração supercrítica, os autores utilizaram a metodologia apresentada Turton et al. (1998). Os três componentes do CUM são estimados em termos de cinco custos principais: matéria-prima, operadores, utilidades, tratamento de resíduos e investimento inicial. Cada um destes custos tem um peso na composição de CUM, conforme a Equação (14):

$$CUM = 0,304FRI + 2,73COP + 1,23 * (CUT + CRT + CMP) \quad (14)$$

onde:

CUM = custo de manufatura;

FRI = fração de investimento;

COP = custo com operadores;

CUT = custo de utilidades;

CTR = custo com tratamento de resíduos;

CMP = custo da matéria-prima.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Nas páginas seguintes são descritas todas as metodologias utilizadas neste trabalho, tanto em experimentos de laboratório, como análises e modelagens matemáticas com auxílio de softwares. Os experimentos foram realizados em três laboratórios: Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e no Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

4.1 Coleta da matéria-prima

A matéria-prima utilizada foram os resíduos do processo de filetagem de pescada-olhuda (*Cynoscion striatus*), sendo este material constituído principalmente por cabeça, espinhaço, vísceras, nadadeiras e couro. Os peixes foram capturados no litoral do estado de Santa Catarina e os resíduos fornecidos pelo Mercado Público de Florianópolis.

Foram feitas duas coletas de matéria-prima: a primeira em outubro de 2009 (lote 1), para realização da otimização do processo de secagem e a segunda coleta em setembro de 2010 (lote 2), para o estudo de ESC.

No Mercado Público os resíduos de filetagem, matéria-prima utilizada neste trabalho, estavam armazenados à temperatura ambiente por cerca de 2 duas horas após os peixes frescos serem filetados, acondicionados em caixas de plástico, as quais seguiriam para descarte em caminhões de lixo no final do expediente. O material fornecido foi acondicionado em caixa térmica e imediatamente transportado ao LATESC, onde foi mantido à temperatura de -18 °C até a realização das análises.

4.2 Pré-processamento

O pré-processamento foi realizado nos dois lotes de matéria-prima e consistiu no fracionamento e moagem com auxílio de um moedor manual de carne, com o objetivo de homogeneizar as amostras. A Figura 7 apresenta a amostra em suas diferentes etapas de pré-

processamento. A amostra resultante do pré-processamento foi chamada de amostra pré-processada do lote 1 (APP-L1) e do lote 2 (APP-L2). As APP-L1 e APP-L2 foram congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Figura 7 Resíduos de pescada-olhada nas diferentes etapas de pré-processamento

4.3 Caracterização da matéria-prima

A APP-L1 e APP-L2 foram submetidas a análises de determinação do teor de lipídios totais, umidade, proteína bruta, resíduo mineral fixo, composição e quantificação dos ácidos graxos conforme as técnicas descritas na seção 4.7.

As análises de acidez, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB) e microbiológicas (determinação de coliformes totais, coliformes fecais, contagem de *Bacillus cereus* e *Salmonella spp*) foram realizadas na APP-L1, descritas nas seções 4.7 e 4.8.

4.4 Otimização do processo de secagem da matéria-prima

A verificação da influência do tempo e temperatura de secagem em estufa de circulação de ar forçado na porcentagem relativa de ômega-3 e na umidade e compostos voláteis da amostra foi realizada através de um planejamento experimental com 3 níveis e 2 variáveis. As variáveis avaliadas foram temperatura, nos níveis $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, e tempo, nos níveis 10 h, 20 h e 30 h. A escolha dos níveis da variável temperatura foi feita com base nos resultados obtidos na otimização da secagem de folhas de cenoura em relação ao teor final de ácidos graxos ômega-3 (ALMEIDA et al., 2009). Para a determinação dos níveis da variável tempo, foram realizados ensaios preliminares observando-se os teores de umidade final.

O planejamento experimental utilizado para a secagem em estufa de circulação de ar forçado foi um fatorial completo 3^2 + duas replicatas do ponto central, totalizando 11 experimentos, conforme apresentado na Tabela 1.

Os experimentos foram realizados com 900 g de APP-L1 dispostos homogeneamente em finas camadas (espessura de aproximadamente 0,5 cm) em três bandejas de secagem em uma estufa com circulação de ar forçado (DeLeo, modelo A3CARF). Após atingida a temperatura do experimento, iniciou-se a contagem do tempo e no final da secagem, as amostras foram trituradas em liquidificador doméstico e armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (por aproximadamente 1 mês) até as análises posteriores.

Tabela 1 Planejamento experimental fatorial completo 3^2 , com as variáveis temperatura (T) e tempo (t), variando em três níveis para o processo de secagem em estufa de circulação de ar forçado

Experimento	Variável codificada T ($^{\circ}\text{C}$)	Variável codificada t (h)	Variável real T ($^{\circ}\text{C}$)	Variável real t (h)
1	-1	-1	50	10
2	-1	0	50	20
3	-1	+1	50	30
4	0	-1	60	10
5	0	0	60	20
6	0	+1	60	30
7	+1	-1	70	10
8	+1	0	70	20
9	+1	+1	70	30
10	0	0	60	20
11	0	0	60	20

Para representar a dependência da porcentagem de ômega-3 com o tempo (x_i) e a temperatura (x_{ii}), ou seja, $\% \text{ ômega-3} = f(x_i, x_{ii})$, uma equação polinomial de segunda ordem foi usada, conforme a Equação 15 (MONTGOMERY, 2005):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (15)$$

onde:

- y = resposta experimental (teor de ômega-3);
- β_0 , β_i , β_{ii} e β_{ij} = coeficientes de regressão;
- x_i e x_j = variáveis independentes (tempo e temperatura).

Uma vez determinadas as condições ótimas de secagem, a amostra obtida nestas condições, sendo neste trabalho chamada de amostra seca no ponto ótimo do lote 1 (ASPO-L1), foi caracterizada pelas análises de umidade e compostos voláteis, resíduo mineral fixo, proteína bruta, lipídios totais, composição e quantificação de ácidos graxos, acidez e SRATB descritas na seção 4.7 e análises microbiológicas de determinação de coliformes totais, coliformes fecais, contagem de *Bacillus cereus* e *Salmonella spp.*, de acordo com a metodologia apresentada na seção 4.8.

4.5 Técnicas de extração dos lipídios

As técnicas de extração utilizadas neste trabalho foram extração Soxhlet e ESC empregando-se CO₂ supercrítico.

4.5.1 Extração Soxhlet

Foi escolhida a extração Soxhlet (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005) com o solvente hexano como técnica convencional de extração. A escolha do hexano deve-se ao fato de ser um solvente apolar amplamente empregado pela indústria de alimentos para obtenção de óleos vegetais (VIANNA; PIRES; VIANA, 1999).

O sistema Soxhlet consiste de um extrator que é acoplado na extremidade inferior a um balão de 250 mL e na extremidade superior a um condensador (Figura 8).

Para cada extração, 5 g de amostra foram envolvidos em um cartucho de papel filtro que foi inserido no extrator. Foram adicionados 150 mL de solvente ao balão, e o mesmo foi aquecido através de uma manta de aquecimento na temperatura de ebulição do hexano (63-69 °C). Com a evaporação do solvente, este entra no condensador e volta à forma líquida, entrando em contato com a amostra e ocorrendo a

extração dos compostos solúveis. Quando a mistura soluto/solvente preenche o sifão, este é esvaziado, retornando ao balão onde é novamente aquecido e o processo de refluxo é repetido até o final das 6 h de extração. Esta análise foi realizada em triplicata. O óleo obtido por essa técnica foi submetido à análises de determinação do perfil e quantificação dos ácidos graxos (seção 4.7).

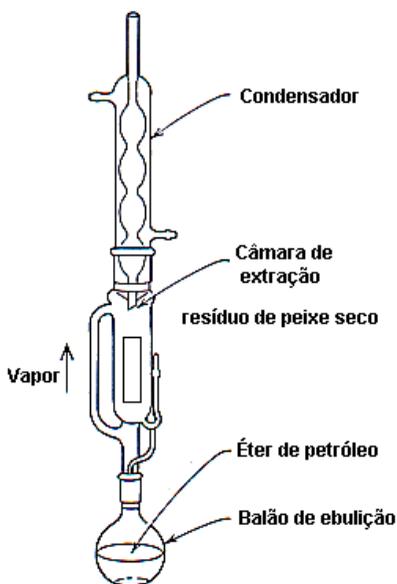


Figura 8 Sistema de extração pelo método Soxhlet

4.5.2 Extração Supercrítica

Os experimentos de ESC foram realizados em três etapas. Na primeira, o objetivo foi determinar as condições ótimas de temperatura e pressão em termos de rendimento global (X_0) e qualidade do extrato (teor de ômega-3). Numa segunda etapa, foram utilizadas as condições ótimas de temperatura e pressão para realização dos experimentos de cinética de extração, visando o levantamento de dados para curvas de cinética e aplicação de modelos matemáticos. Na terceira etapa, também nas condições ótimas, foi realizada a AE, com o objetivo de reproduzir o comportamento das curvas de extração observado na escala menor e realizar a estimativa de custos do processo.

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados pelo menos em duplicata, através do método dinâmico de extração, caracterizado pela passagem contínua do solvente supercrítico pela matriz sólida. As condições de vazão de CO₂, temperatura e pressão foram selecionadas considerando-se os melhores resultados de operação para extração de lipídios de peixe contidos na literatura (TEMELLI; LeBLANC; FU, 1995; ESQUÍVEL et al., 1997; LÉTISSE et al., 2006; RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2008) e limitações do equipamento.

4.5.2.1 Equipamento de Extração Supercrítica

Para a realização dos experimentos foram utilizadas duas unidades de extração supercrítica do Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). A Unidade SFE-Li foi utilizada para a realização dos experimentos de rendimento. Já os experimentos de cinética e ampliação de escala foram realizados na unidade SPe-ed (Applied Separations, Spe-ed SFE, Allentown, EUA). Na sequência é dada uma descrição das duas unidades.

4.5.2.1.1 Unidade SFE-Li

O leito da Unidade SFE-Li contém uma célula de extração de aproximadamente 415 mL (diâmetro interno de $3,4 \times 10^{-2}$ m e altura de $37,5 \times 10^{-2}$ m) e suporta pressões de até 400 bar. A unidade é equipada com dois banhos termostáticos que controlam as temperaturas: i) do CO₂ líquido (-10 °C) na entrada da bomba (Marconi, Modelo MA-184, Piracicaba, SP), responsável por manter o resfriamento e condensação do CO₂ e refrigerar o cabeçote da bomba e; ii) do leito de extração (PolyScience, modelo 9510, Niles, EUA) responsável pela manutenção da temperatura do extrator de aço inox. O equipamento é provido de duas bombas de solvente: i) bomba pneumática - booster (Maximator mod PP 111-VE MBR, Alemanha), destinada à circulação do dióxido de carbono e; ii) do modificador (Thermo Separation Products, ConstaMetric[®] 3200 P/F, Fremont, EUA). Em seguida, um totalizador de vazão (LAO, modelo G0,6, $\pm 0,001$ m³, São Paulo, SP), termopares e três manômetros (Record, 50 MPa $\pm 0,5$, São Paulo, SP).

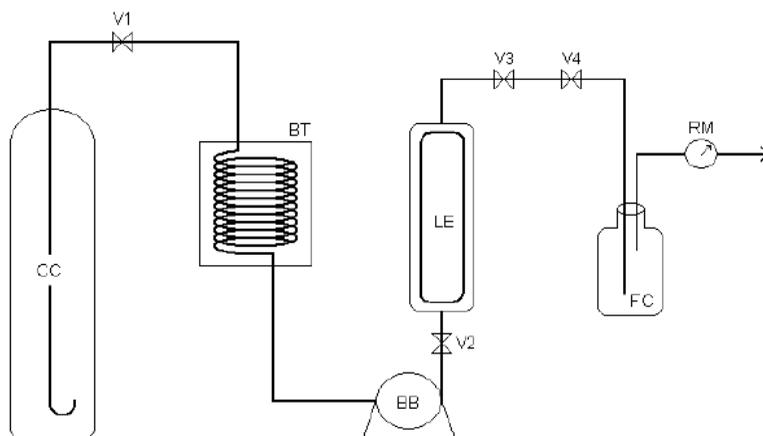
Para a determinação do X₀, cada amostra foi empacotada em célula de *nylon* e completada com esferas de vidro, nas mesmas medidas do extrator. Na base do extrator, foi inserida uma coluna de teflon

perfurada equivalente a aproximadamente 70 % do volume do extrator com a finalidade de diminuir o seu volume, diminuindo o tempo de pressurização e a perda de carga do sistema. Estas mesmas condições foram estabelecidas para as outras extrações de X_0 .

O dióxido de carbono (99,0 % de pureza, Gama Gases Industriais, Campinas, SP) passa pelo banho termostático mantendo sua temperatura a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de passar pela bomba garantindo assim que o CO_2 esteja líquido. O CO_2 entra no extrator previamente acondicionado com a matéria-prima. Desta forma, o solvente passa pelo leito de extração empacotado e é coletado após a expansão na válvula micrométrica em um frasco coletor de 50 mL imerso em banho de gelo à pressão ambiente. Por fim, o solvente passa através de um totalizador de vazão e é então liberado para o ambiente.

4.5.2.1.2 Unidade Spe-ed SFE

A Figura 9 apresenta esquema da unidade de extração supercrítica Spe-ed SFE.



Fonte: Vasconcellos, 2007

Figura 9 Diagrama da unidade SFE Spe-ed

CC: cilindro de CO_2 ; BT: banho termostático; BB: bomba pneumática; LE: leito de extração; V1: Válvula 1; V2: válvula 2; V3: válvula macrométrica; V4: válvula micrométrica; FC: frasco coletor e RM: rotâmetro.

O CO₂ (CC) (99,0% de pureza, Gama Gases Industriais, Campinas, SP) é resfriado a -10 °C em banho termostático (BT) (Marconi, modelo M-184, Campinas, SP) com etileno glicol e água para garantir que o dióxido de carbono esteja no estado líquido ao alcançar a bomba evitando a cavitação da mesma. O sistema de pressurização é formado por uma bomba pneumática (BB), onde o CO₂ resfriado é comprimido através da bomba. O solvente passa então por um leito de extração (LE), instalado dentro de um forno com aquecimento elétrico. A temperatura do processo é monitorada por um termopar colocado na parede externa do extrator, sendo que esta temperatura é considerada igual a do interior do extrator. A mistura solvente + soluto é expandida até pressão ambiente em uma válvula micrométrica (V4). A válvula é aquecida para evitar o congelamento devido ao efeito Joule-Thompson, em que a expansão altera as propriedades do dióxido de carbono, reduzindo drasticamente a solubilidade do soluto no mesmo. O extrato é coletado em frasco de vidro, o dióxido de carbono passa pelo rotâmetro (RM) e depois por um totalizador de vazão e é então liberado para o meio-ambiente externo.

4.5.2.2 Influência da pressão e temperatura de ESC no rendimento e qualidade do óleo de pescada olhuda

Para determinação do tempo de extração para os ensaios de rendimento global, foram realizados testes preliminares na seguinte condição: 200 bar de pressão, temperatura de 30 °C, vazão de solvente de 0,0904 g/min e massa de amostra de aproximadamente 4 g.

Nos experimentos de rendimento global o material extraído foi coletado em um único frasco de vidro (50,0 mL), previamente pesado, durante 150 min, à vazão de CO₂ fixa de 0,0904 g/min e diâmetro de partícula fixo de 0,74±0,3 mm. A avaliação da influência da pressão e temperatura de operação no rendimento global da ESC foi realizada por meio de um planejamento experimental com 3 níveis e 2 variáveis. As variáveis avaliadas foram a pressão nos níveis 200 bar, 250 bar e 300 bar e temperatura nos níveis 30 °C, 45 °C e 60 °C. O planejamento experimental utilizado foi um fatorial completo 3², totalizando nove experimentos, conforme a Tabela 2.

Cada experimento foi realizado em duplicata, com altura de leito constante através da utilização de aproximadamente 5,5 g de matéria prima, visando à obtenção de extrato suficiente para realização das análises para determinação da qualidade (% ômega-3).

Tabela 2 Planejamento fatorial completo 3², com as variáveis pressão (P) e temperatura (T), variando em três níveis

Experimento	Variável codificada P	Variável codificada T	Variável real P (bar)	Variável real T (°C)
1	-1	-1	200	30
2	-1	0	200	45
3	-1	+1	200	60
4	0	-1	250	30
5	0	0	250	45
6	0	+1	250	60
7	+1	-1	300	30
8	+1	0	300	45
9	+1	+1	300	60

A massa de extrato obtida foi aferida em balança analítica e os frascos armazenados em freezer até a realização das análises posteriores. O rendimento global (X_0) da extração foi calculado pela razão entre a massa de extrato (m_{ext}) obtida e a massa de amostra em base seca (M) utilizada para formar o leite, conforme a Equação 16.

$$X_0 = \frac{m_{ext}}{M} \times 100 \quad (16)$$

4.5.2.3 Curvas de ESC do óleo de resíduo pescada olhuda

Os experimentos cinéticos de ESC para a obtenção das curvas de extração de óleo de pescada olhuda consistem na determinação da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração. Para a determinação das curvas de extração foram utilizados aproximadamente 5,5 g de ASPO-L2.

Os frascos de coleta foram previamente pesados em balança analítica e a coleta do soluto extraído realizada em intervalos de tempos pré-determinados, sendo o extrato pesado, de forma a determinar a massa de óleo obtida em função do tempo de experimento.

Os experimentos cinéticos foram realizados utilizando CO₂ puro nas condições de temperatura e pressão de 30 °C e 200 bar, selecionadas

a partir dos resultados obtidos nos ensaios de rendimento (seção 5.2), vazões de 3,616 g/min e 9,04 g/min e diâmetro de partícula de fixo de $0,74 \pm 0,3$ mm.

4.5.2.4 Modelagem matemática das curvas de ESC

A modelagem matemática das curvas de dados experimentais de ESC foi realizada com o objetivo de avaliar a influência dos parâmetros de cada modelo no ajuste das curvas experimentais de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhada. Utilizaram-se os modelos de Martínez et al. (2003), Sovová (1994) e a aplicação da 2^a Lei da Difusão de Fick, por meio de um algoritmo que estabelece limites para cada parâmetro ajustado (POWELL, 2009) programado em linguagem FORTRAN, sendo que a função objetivo a ser minimizada é a soma dos quadrados dos resíduos. Para aplicação dos modelos, uma série de parâmetros de processo foi obtida experimentalmente ou estimada.

As curvas de ESC obtidas nas condições descritas na seção 4.5.2.3 foram modeladas. Os parâmetros ajustáveis do modelo de Sovová (1994) são X_k , a razão de soluto de difícil acesso na matriz; $k_y a$ e $k_x a$, os coeficientes de transferência de massa nas fases fluida e sólida, respectivamente. Alguns dados do processo são necessários para aplicar o modelo, como: rendimento da extração (X_0), altura e diâmetro da coluna (H e d), massa de sólido (M), diâmetro médio de partículas \bar{d}_s , massa específica do solvente (ρ), massa específica real do sólido (ρ_r), massa específica aparente do sólido (ρ_a) e solubilidade do extrato no solvente, nas condições de extração (Y^*). Todos estes dados foram medidos, exceto ρ , ρ_r e Y^* .

A determinação da massa específica do CO_2 supercrítico (ρ) nas condições de operação utilizadas foi calculada pela equação de Angus, Armstrong e Reuck (1976).

A determinação da massa específica real (ρ_r) da amostra foi estimada com base na massa específica da fração de proteína, lipídios, cinzas e umidade da amostra (ASHRAE, 1998).

A massa específica aparente (ρ_a) do leito de partículas formado pela amostra foi obtida pela relação entre a massa de amostra utilizada nos experimentos de cinética da ESC pelo volume do leito, incluindo assim apenas os poros do leito e não os poros do interior das partículas.

A solubilidade do extrato no solvente (Y^*) foi estimada extrapolando-se os dados experimentais de solubilidade de óleo de

fígado de bacalhau em CO₂ supercrítico (CATCHPOLE; GREY; NOERMARK, 1998).

O diâmetro médio de partículas foi calculado empregando-se metodologia proposta por Gomide (1983), conforme as Equações 17 e 18:

$$\bar{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta \ell_i}{\bar{d}_i}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta \ell_i}{\bar{d}_i^3}}} \quad (17)$$

$$\Delta \ell_i = \frac{m_i}{M} \quad (18)$$

onde:

- \bar{d}_s = diâmetro médio superficial das partículas (cm);
- m_i = massa de amostra retida na peneira i (g);
- M = massa total de amostra (g);
- \bar{d}_i = diâmetro médio da peneira i (cm);
- n = número total de frações.

Para o modelo de Martínez et al. (2003), considerando o extrato como um único pseudocomposto, são necessários os seguintes parâmetros: rendimento global (X_0) e massa de matéria-prima utilizada (M). Os parâmetros ajustáveis do modelo são b (sem significado físico, s⁻¹) e t_m (instante no qual a taxa de extração alcança o valor máximo, em s).

4.5.2.5 Ampliação de escala (AE) da ESC de óleo de resíduo de pescada olhada

As condições de temperatura e pressão de operação utilizadas nos ensaios de AE foram selecionadas a partir dos resultados dos experimentos de rendimento global (seção 5.2) e considerando limitações do equipamento. Assim, definiu-se a temperatura de 30 °C e

pressão de 200 bar para a realização dos ensaios em pequena e grande escalas.

Segundo Clavier e Perrut (2004), são três os critérios de aumento de escala que estão relacionados aos mecanismos de transferência de massa envolvidos na ESC: manter constante a relação m_{solv}/M , quando a solubilidade limita o processo; manter constante a relação Q_{CO_2}/M , quando o processo é limitado pela difusão; manter constantes ambas as relações m_{solv}/M e Q_{CO_2}/M , quando o processo é limitado por ambos os mecanismos. Neste estudo foi empregado o critério de ampliação de escala para processos limitados pela difusão: manter constante a razão Q_{CO_2}/M , critério este escolhido pela observação preliminar do comportamento das curvas de extração.

A razão de AE utilizada foi de 5 vezes, limitada pela configuração do equipamento de extração. A fim de atender a conservação da razão indicada, a massa de amostra utilizada no experimento de pequena escala foi de 5,5 g, vazão de solvente de 3,616 g/min e tempo total de extração de 150 min. Na escala grande, foi utilizado 27,5 g, à vazão de solvente de 18,08 g/min e tempo de extração de 150 min. X_0 foi calculado em base seca (b.s.).

4.6 Análise de estimativa de custos

A estimativa de custos da AE de ESC do óleo de resíduo de pescada foi realizada com o auxílio do software Tecanalysis (ROSA; MEIRELES, 2005), desenvolvido pelo Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O cálculo de custo de manufatura é realizado conforme a Equação (14), proposta por Turton et al. (1998). Os valores dos parâmetros para cálculo do custo de manufatura foram obtidos conforme a seguir:

- a) Investimento inicial: valores de duas unidades 2 x 500 L, de procedência chinesa e americana, conforme apresentado na Tabela 3.
- b) Tempo total de operação anual: consideraram-se jornadas de trabalho de 24 h/dia, durante 330 dias no ano;
- c) Custo operador: valor indicado por Rosa e Meireles (2005);
- d) Custo da matéria-prima sólida: 0 (resíduo da indústria pesqueira);

- e) Custo com transporte: 0 (considerou-se que a extração do óleo seria um setor das indústrias de processamento de pescado);
- f) Umidade inicial: conforme resultados da seção 5.2;
- g) Umidade final: conforme resultados da seção 5.2.1;
- h) Custos de moagem e secagem: valor indicado por Rosa e Meireles (2005);
- i) Custo do CO₂: conforme valor indicado por Pereira, Rosa e Meireles (2007);
- j) Perda de CO₂ (em relação ao total utilizado em um ciclo): valor indicado por Rosa e Meireles (2005);
- k) Custo elétrico: referindo-se ao preço praticado pela empresa de energia elétrica do estado de São Paulo para indústrias (CPFL, 2008);
- l) Custo de refrigeração da água: conforme valor indicado por Rosa e Meireles (2005) e Pereira, Rosa e Meireles (2007);
- m) Custo de vapor saturado: conforme valor indicado por Rosa e Meireles (2005) e Pereira, Rosa e Meireles (2007);
- n) Depreciação: conforme valor indicado por Danielski et al. (2005) e Rosa e Meireles (2005);
- o) Tempo de extração: avaliaram-se diferentes tempos da curva de cinética de AE;
- p) Temperatura e pressão de operação: condições da proposta de AE considerada como mais adequada (seção 5.3.2.2);
- q) Pressão de separação: 40 bar (nesta condição considera-se que todo o extrato está na fase líquida);
- r) Vazão de CO₂: as vazões foram determinadas conforme a melhor proposta de AE, de acordo com o volume do extrator avaliado;
- s) Massa específica do leite: obtida na seção 5.3.3;
- t) Método de AE: Razão constante entre massa de matéria-prima (M) e vazão de CO₂ (Q_{CO2}) – Rendimento conforme proposta de AE em função do tempo avaliado, em base úmida (b.u.);
- u) Custo de tratamento de resíduos: 0

Tabela 3 Custo estimado pela regra do six-tenth (Turton et al., 2003) dos equipamentos no mercado americano e chinês

Capacidade dos Extratores (L)	Custo da unidade Americana (US\$)	Custo da unidade Chinesa (US\$)
50	200.000,00	100.000,00
100	500.000,00	300.000,00
200	1.125.000,00	650.000,00
300	1.500.000,00	850.000,00
400	1.750.000,00	1.000.000,00
500*	2.000.000,00	1.150.000,00
1000	3.000.000,00	2.000.000,00

Fonte: Prado, I. M. (2009)

* Configuração utilizada para as estimativas de custo da ESC neste estudo.

4.7 Análises químicas

As análises químicas dos extratos foram realizados no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Química (DQI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

4.7.1 Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis

A determinação do teor de umidade foi realizada conforme técnica descrita na AOAC (AOAC, 1998), cujo método fundamenta-se na perda de umidade e substâncias voláteis a 105 °C. Cadinhos de porcelana foram previamente calcinados em mufla por 3 h e 550 °C, resfriados em dessecador até temperatura ambiente e suas massas foram posteriormente mensuradas em balança analítica. Cerca de 3,0 g de amostra foi colocada nos cadinhos, aquecidos em estufa a 105 °C por 3 h, esfriados em dessecador até temperatura ambiente e pesados. Repetiram-se estas operações de aquecimento e resfriamento da amostra em intervalos de meia hora, até peso constante. A determinação da umidade das amostras foi realizada em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão. A umidade e substâncias voláteis da amostra foi calculada através da Equação 19.

$$\text{Umidade}(\%) = \frac{m_{ia} - m_{fa}}{m_i} \times 100\% \quad (19)$$

onde:

m_{ia} = massa inicial de amostra (g);

m_{fa} = massa final de amostra (g).

4.7.2 Resíduo mineral fixo

A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada conforme técnica da AOAC (AOAC, 1998), que consiste em calcinar a amostra em mufla a 550 °C durante 6 h. A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada em triplicata e os resultados expressos em base úmida como média \pm desvio padrão.

4.7.3 Determinação do teor de proteína bruta

A análise do teor de proteína bruta foi realizada pelo processo semi-micro Kjeldahl, conforme técnicas da AOAC (AOAC, 1998). Este método consiste de três etapas: processo de digestão para a conversão dos compostos orgânicos e posterior separação da amônia por destilação, a qual é recolhida por uma solução receptora sendo titulada com ácido até a viragem.

Pesou-se 0,2 g de amostra em papel manteiga. A amostra foi transferida para um tubo de digestão e adicionou-se 10,0 mL de ácido sulfúrico concentrado e 0,5 g de mistura catalítica. Os tubos foram levados até o digestor, onde ficaram sob aquecimento (300 °C a 400 °C) por aproximadamente 4 horas. Após atingirem temperatura ambiente, dilui-se com água destilada o conteúdo dos tubos e a solução foi transferida para um tubo de destilação. O mesmo foi acoplado ao destilador e adicionou-se 40,0 mL de NaOH 50 %. Ligou-se o aquecimento. Foi preparada uma solução de ácido bórico (4 %), e 30,0 mL dessa solução foi adicionada a um erlenmeyer com 5 gotas de indicador de proteína. O erlenmeyer foi acoplado ao equipamento e deixou até completar o volume de 150,0 mL. A solução foi titulada com ácido clorídrico até o ponto de viragem. A determinação do teor de proteína bruta das amostras foi realizada em triplicata e os resultados expressos em base úmida como média \pm desvio padrão.

4.7.4 *Extração de lipídios totais*

Os lipídios totais foram extraídos com uma mistura de clorofórmio-metanol-água (2:2:1,8 v/v), segundo Bligh e Dyer (1959). Pesou-se cerca de 15,0 g de amostra com umidade corrigida para 80 %, adicionados 30,0 mL de solução clorofórmio-metanol (1:2 v/v) e agitados vigorosamente por 5 min. Depois, foram adicionados à mistura 15,0 mL de clorofórmio e agitados por 2 min, 15,0 mL de água destilada, agitados por 5 min. A mistura foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro quantitativo. A solução resultante foi transferida para um funil de separação de 250,0 mL. Após a separação das fases, a inferior contendo o clorofórmio e os lipídios, foi drenada para balão previamente pesado, e o solvente eliminado em evaporador rotatório, com banho a 30 °C. O teor de lipídios foi determinado gravimetricamente. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em base úmida como média \pm desvio padrão.

4.7.5 *Determinação das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (SRATB)*

A determinação da SRATB foi realizada conforme metodologia descrita por Vyncke (1970). Cerca de 1,0 g de amostra foi pesado e transferido para um balão volumétrico de 50,0 mL. Completou-se o volume com solução de ácido tricloroacético 7,5 % (m/v) e a solução resultante foi centrifugada em velocidade média por 10 min. Após a centrifugação, 5,0 mL da solução foi transferida para um tubo de ensaio com tampa de rosca. Adicionou-se aos tubos 5,0 mL de solução de ácido tiobarbitúrico 0,02 mol/L. Os tubos foram levados a banho fervente durante 40 min até o desenvolvimento da coloração rósea. A absorbância foi medida no comprimento de onda de 538 μ m. Um branco foi preparado paralelamente, sem a adição de amostra na solução de 7,5 % de ácido tricloroacético. A quantificação em mg de equivalente de malonaldeído foi realizado com auxílio de curva padrão de 1,1,3,3 tetrametoxipropano (Apêndice I).

4.7.6 *Determinação da acidez titulável*

A determinação da acidez foi realizada pela técnica descrita no Instituto Adolfo Lutz (2005), que consiste na titulação de 2,0 g de óleo homogeneizado em 25,0 mL de solução éter-álcool (2:1) neutra

adicionada de gotas de indicador fenolftaleína com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L até o aparecimento da coloração rósea. A acidez foi calculada pela Equação 20 e expressa em porcentagem de ácido oléico (% m/m).

$$AT = \frac{vfM 28,2}{P} \quad (20)$$

onde:

AT: acidez total titulável;

v: volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L gasto na titulação (mL);

f: fator da solução de hidróxido de sódio;

P: massa da amostra (g).

4.7.7 Transesterificação dos ácidos graxos

Os ácidos graxos dos lipídios totais foram transformados em ésteres metílicos de ácidos graxos pelo método de Hartman e Lago (1973) modificado por Maia e Rodrigues-Amaya (1993). Foi pesado em um tubo de ensaio cerca de 20,0 mg de lipídios, adicionou-se 4,0 mL de solução 0,5 mol/L NaOH em MeOH e em seguida o tubo foi fechado e levado a banho fervente por 5 minutos. O tubo foi esfriado em água corrente e foram adicionados 5,0 mL do reagente esterificante. Novamente o tubo foi levado a banho fervente e esfriado em água corrente. Adicionou-se 4,0 mL de solução saturada de NaCl e agitou-se por 30 segundos. Adicionou-se 2,0 mL do solvente n-heptano e agitou-se por 30 segundos. O tubo foi mantido em repouso na geladeira até a separação das fases. O sobrenadante foi recolhido e transferido para frasco âmbar para posterior análise cromatográfica.

4.7.8 Análise cromatográfica

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados em cromatógrafo a gás Varian, modelo 3380, equipado com um detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP - 7420 (Select FAME) (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de cianopropil). O fluxo de H₂ (gás de arraste) foi de 1,0 mL/min, com 30 mL/min de N₂ (*make up*); e 30 e 300 mL/min, para o H₂ e ar sintético, para a chama do detector. O volume injetado foi de 2,0 µL,

utilizando *split* 1:80, sendo as temperaturas do injetor e detector de 220 °C e 240 °C, respectivamente, enquanto a coluna de 165 °C durante 18 min e elevada a 235 °C com taxa de 4 °C/ min, mantida por 14,5 min. As concentrações foram determinadas através da integração das áreas dos picos pelo Software Varian Workstation Star, versão 5.0, e os resultados expressos em porcentagens de área relativa e/ou em mg de ácidos graxos/g de lipídios totais.

4.7.9 Quantificação dos ácidos graxos

Os ácidos graxos existentes nos lipídios totais foram quantificados em mg/g de lipídios totais, utilizando o tricosanoato de metila (23:0) como padrão interno. Aos lipídios extraídos foi adicionado 500 µL de uma solução padrão de concentração 1 mg/mL de tricosanoato de metila e submetido ao mesmo processo de transesterificação descrito no item 4.7.7. Os cálculos foram realizados segundo método de Joseph e Ackman (1992), conforme Equação 21.

$$C_x = \frac{A_x M_p F_{ct}}{A_p M_a F_{cea}} \quad (21)$$

onde:

C_x = concentração do ácido graxo x (mg/g de lipídio);

M_p = massa do padrão interno (mg);

M_a = massa da amostra de lipídios totais (g);

A_p = área do padrão interno;

A_x = área do ácido graxo x;

F_{cea} = fator de conversão de metil éster para ácido graxo;

F_{ct} = fator de correção (do detector de ionização chama) teórico do ácido graxo.

4.8 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (LABCAL -UFSC). Foram determinados os coliformes totais (coliformes a 35 °C), coliformes fecais (coliformes termotolerantes), contagem de *Bacillus cereus* e *Salmonella spp*, conforme as técnicas descritas em APHA (2001).

4.9 Análise estatística

Os resultados dos ensaios de secagem (referente a seção 5.1) e dos ensaios de rendimento de extração supercrítica de óleo de resíduo de pescada-olhuda (referente a seção 5.3.2.2) foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) ao nível de 5 % de significância com o auxílio do software Statistica 7.0. Se, segundo a ANOVA existiu diferença significativa ao nível de 5 % de significância entre as médias dos tratamentos pode-se dar continuidade à análise aplicando o teste de Tukey o qual avalia as diferenças entre os pares de tratamentos. Sendo assim, o teste de Tukey foi aplicado para verificar quais tratamentos diferem entre si.

Posteriormente, a partir da ANOVA, construiu-se uma superfície de resposta e relações empíricas da influência da tempo e temperatura na porcentagem de ômega-3 das amostras.

Os resultados de concentração de ácidos graxos para os diferentes extratos também foram avaliados através da ANOVA seguida pelo teste de Tukey.

Os resultados das diferenças estatísticas obtidas através do teste de Tukey foram apresentados como letras sobrescritas às médias das respostas correspondentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de facilitar a apresentação dos resultados, esta seção está dividida em duas partes. A primeira apresenta os resultados obtidos na otimização de secagem da matéria-prima e a segunda trata dos resultados de estudo do rendimento e qualidade dos extratos obtidos por Soxhlet e ESC empregando-se diferentes condições de temperatura e pressão, da cinética, dos métodos de aumento de escala e finalmente da avaliação da viabilidade econômica da ESC de resíduo de pescada-olhuda.

5.1 Otimização da secagem de resíduo de pescada-olhuda

5.1.1 Caracterização das APP-L1 e ASPO-L1

Para a realização do estudo da secagem, foi utilizada a matéria-prima do lote 1 (APP-L1). A APP-L1 foi caracterizada quanto a sua composição centesimal, quantificação dos ácidos graxos, análise microbiológica e seu estado de oxidação foi determinado pelas análises de acidez e SRATB.

A composição centesimal da APP-L1 é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 Composição centesimal (g/100 g) da APP-L1

Parâmetro	Resultados (g/100 g)
Umidade e compostos voláteis	68,6±0,5
Resíduo mineral fixo	7,0±0,2
Proteína bruta	19±1
Lipídios totais	3,3±0,2

APP-L1: amostra pré-processada do lote 1. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas.

Por se tratar de um material que sofreu uma etapa de processamento, o teor de umidade obtido (68,6 g/100 g) foi inferior ao encontrado para outras amostras de resíduos de peixe *in natura*. Cabe ressaltar que durante o processo de moagem, foi observado escoamento de líquidos pelas conexões do moedor. Rubio-Rodríguez et al. (2008), ao avaliar a composição centesimal de resíduos do processamento de

merluzas (*Merluccius capensis*–*Merluccius paradoxus*), encontrou um valor de umidade de 80 %.

A amostra apresentou alto teor de proteínas (19 g/100 g) e teor de lipídios de 3,3 g/100 g. A pescada é um peixe considerado semigordo (teor de gordura ente 4% a 8%) de acordo com a classificação de proposta por Ackman (1989), com aproximadamente 5% de gordura no músculo conforme a Tabela de Brasileira de Composição de Alimentos (2005).

Foram identificados 19 ácidos graxos nos lipídios totais da APP-L1 (Tabela 5). Os ácidos graxos majoritários foram os ácidos palmítico (16:0), oléico (18:1 n-9) e DHA. De maneira geral, estes mesmos ácidos foram predominantes nos lipídios obtidos do músculo de 15 espécies de peixes da costa sudeste do Brasil (VISENTAINER et al., 2007).

Entre os ácidos graxos da família ômega-3 observou-se uma predominância do DHA, sendo que sua porcentagem foi aproximadamente três vezes superior a do EPA.

Cerca de 25 % dos ácidos graxos identificados na APP-L1 são poli-insaturados da família ômega-3. Tal resultado sugere que o resíduo de filetagem de pescada olhuda é adequado para a para a extração de óleos com alto teor de ácidos graxos ômega-3.

Simopoulos (2002) estudou a importância da razão n-6/n-3 em dietas ocidentais e concluiu que baixos valores, da ordem de 1 a 1/5 estão associados a redução do risco de inúmeras doenças crônicas. Adicionalmente, a razão n-6/n-3 pode ser utilizada para avaliar a qualidade nutricional da fração lipídica em alimentos. Neste estudo a razão encontrada (0,05) é inferior aos valores sugeridos por Simopoulos (2002), sendo assim, a ingestão do óleo de resíduos de filetagem de pescada olhuda pode certamente, auxiliar no restabelecimento do equilíbrio da ingestão destes ácidos graxos.

Tabela 5 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da APP-L1

Ácidos graxos	Concentração (mg/g)
14:0	33,6±0,7
15:0	4,1±0,4
16:0	185±6
16:1 n-9	60±4
17:0	7,5±0,5
18:0	43±2
18:1 n-9	177±9
18:1 n-7	23±2
18:2 n-6	10±1
18:3 n-3 (LNA)	6,5±0,3
20:0	4,0±0,3
20:1 n-9	16±6
20:3 n-3	10,8±0,7
22:1 n-9	20±3
20:5 n-3 (EPA)	42±1
24:1 n-9	3,6±0,3
22:4 n-3	5,6±0,6
22:5 n-3	10,5±0,5
22:6 n-3 (DHA)	113±3
AGS	278±9
AGMI	299±11
AGPI	199±7
AG total	775±24
n-3	189±19
n-6	9,9±0,9
n-6/n-3	0,05±0,00
AGPI/AGS	0,72±0,00

APP-L1: amostra pré-processada do lote 1. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

No Apêndice II consta o cromatograma com os ácidos graxos identificados na APP-L1.

Os resultados das análises microbiológicas da APP-L1 são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 Resultados das análises microbiológicas da APP-L1

	APP-L1
Coliformes totais (NMP/g)	9,2
Coliformes fecais (NMP/g)	< 3
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	< 1,0 x 10 ²
<i>Salmonella</i> spp /25 g	Presente

APP-L1: amostra pré-processada do lote 1. Valores expressos em UFC/g (unidade formadora de colônia por grama) e NMP/g (número mais provável por grama).

Salmonella spp. foi detectada na APP-L1. Estudos conduzidos por Kumar et al. (2003) e Shabarinath et al. (2007) detectaram *Salmonella* em pescados tropicais. O habitat natural da *Salmonella* spp. é o trato intestinal de mamíferos, aves e répteis (PELZER, 1989) e de acordo com Kumar et al. (2003), este micro-organismo atinge os ambientes aquáticos por meio de contaminação com fezes humanas e de outras espécies, o que causa ocasional contaminação de peixes. A presença de salmonela na amostra indica a necessidade de um tratamento térmico a fim de eliminar este micro-organismo altamente patogênico do resíduo de pescada.

Os resultados dos indicadores de oxidação lipídica para a APP-L1, a acidez e SRATB, foram de 12,3 (\pm 0,3) % em ácido oléico e 188 (\pm 8) mg equivalente de malonaldeído/kg de lipídios totais, respectivamente.

O alto valor de acidez indica que houve a formação de ácidos graxos livres durante o pré-processamento. Possivelmente, o índice de acidez aumentou drasticamente em função da ocorrência de hidrólise enzimática durante o processo de moagem, pela exposição das enzimas lipolíticas (HAMILTON et al., 1983) naturalmente presentes no trato digestório do pescado.

A determinação de SRATB é uma medida da formação de produtos secundários de oxidação, e o resultado encontrado também indica a ocorrência de reações de oxidação lipídica na APP-1. Eymard et

al., (2005) ao estudarem o desenvolvimento de oxidação lipídica durante o processamento de surimi a partir de *horse mackerel*, constatou que o valor de SRATB aumentou significativamente, partindo de 8,4 mg de equivalente de malonaldeído/kg de lipídios totais na matéria prima para 235 mg de equivalente de malonaldeído/kg de lipídios totais para o material refinado.

O aumento da oxidação lipídica durante o pré-processamento pode estar relacionado a diversos fatores, entre eles, a alta concentração de lipídios poli-insaturados no material, aliado a presença de pró-oxidantes, como íons metálicos e hemoproteínas (UNDELAD; STADING; LINGNERT, 1998) presentes no resíduo de filetagem de pescada e no próprio moedor utilizado para o processamento.

Depois de capturado, o músculo do pescado é altamente propenso a oxidação lipídica em condições adequadas de armazenamento, incluindo temperaturas inferiores a 0 °C e curtos período de estocagem são necessários para a manutenção da qualidade lipídica (EYMARD et al., 2005). Por exemplo, aumentos significativos nas concentrações de produtos de oxidação lipídica foram detectados em filés de carapau após 6 h de armazenamento a 17 °C e após 36 h a temperatura inferior a 0 °C (EYMARD, 2003). Sendo assim, a matéria-prima coletada já se apresentava em pronunciado estado de oxidação lipídica, devido principalmente às precárias condições de armazenamento (temperatura ambiente e longo período de estocagem).

5.2 Ensaios de otimização de secagem

A APP-L1 foi submetida à secagem em estufa de circulação de ar forçado sob diferentes condições de tempo e temperatura, conforme seção 4.4 e seu valor de umidade final e porcentagem relativa de ácidos graxos ômega-3 foram determinados e constam na Tabela 7.

De acordo com a Tabela 7, o maior teor de umidade (18,44 %) foi para o experimento 1, com menor tempo e menor temperatura, de 50 °C e 10 h. Já a menor umidade foi verificada no experimento 8, com temperatura e tempo de 70 °C e 20 h. Esperava-se que o menor teor de umidade fosse encontrado no experimento 9, para o qual é utilizado um tempo superior de secagem, entretanto, os valores de umidade para os experimentos 8 e 9 não apresentaram diferença significativa segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Exceto para o experimento 1, o qual apresentou um elevado teor de umidade, os outros experimentos apresentam teores de umidade adequados para ESC segundo Dunford, Goto e Temelli (1998). Estes

autores estudaram o efeito da umidade do peixe cavala (*Scomber scombrus*), de 62,2 % a 3,7 % (m/m) no rendimento da ESC e concluíram que quanto maior o teor de umidade da amostra, menor o rendimento obtido na ESC. Tal comportamento é consequência do aumento da concentração de água na fase fluida e adicionalmente a alta concentração de água na matriz sólida pode atuar como uma barreira ao acesso do fluido supercrítico aos lipídios na estrutura do músculo do peixe (DUNFORD; GOTO; TEMELLI, 1998).

Tabela 7 Teores de umidade (%) e somatório de ômega-3 (% relativa) obtidos nos experimentos de secagem em estufa de circulação de ar forçado variando a temperatura (T) e tempo (t)

Experimento	(x ₁ , x ₂)	Variáveis independentes		Umidade ^a (%)	Ômega-3 ^a (% relativa)
		T (°C)	t (h)		
1	(-1,-1)	50	10	18,44 ^a ±0,07	19,49 ^a ±0,01
2	(-1,0)	50	20	4,47 ^b ±0,07	21,34 ^b ±0,08
3	(-1,+1)	50	30	3,1 ^c ±0,1	21,4 ^b ±0,2
4	(0,-1)	60	10	5,45 ^d ±0,04	22,84 ^c ±0,08
5	(0,0)	60	20	3,29 ^c ±0,03	23,22 ^{cd} ±0,05
6	(0,+1)	60	30	1,59 ^e ±0,07	22,25 ^e ±0,03
7	(+1,-1)	70	10	1,86 ^f ±0,05	25,07 ^g ±0,01
8	(+1,0)	70	20	1,19 ^g ±0,02	24,4 ^f ±0,3
9	(+1,+1)	70	30	1,36 ^g ±0,02	23,57 ^d ±0,09
10	(0,0)	60	20	3,26 ^c ±0,21	23,21 ^{cd} ±0,01
11	(0,0)	60	20	3,31 ^c ±0,07	23,16 ^{cd} ±0,01

^aResultados dados como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Quanto a porcentagem dos ácidos graxos ômega-3, o experimento 7, com as condições de ensaio de 70 °C e 10 h forneceu o melhor resultado. O teor encontrado de 25,07 %, apesar de ser superior ao valor inicial para a porcentagem dos ácidos graxos ômega-3 da matéria prima (24,38 %), não apresenta diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05). Isso nos permite inferir que não houve oxidação dos ácidos graxos, apesar de ser o experimento que utilizava maior temperatura e

que os ácidos graxos poli-insaturados são facilmente oxidáveis e termolábeis (REGULSKA-ILOW; ILOW, 2002).

Este resultado (experimento 1) pode ser explicado pela oxidação dos lipídios durante o processo de secagem pela ação de lipases existentes no trato digestório dos peixes. O pescado é extremamente perecível devido às características intrínsecas de sua carne (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996). Esses processos de deterioração envolvem a atividade enzimática, a rancificação de gorduras e a ação de micro-organismos presentes em sua superfície, guelras e trato intestinal (LEITÃO, 1994).

Na temperatura de 50 °C, a qual apresentou a menor porcentagem de ômega-3, micro-organismos termófilos podem desenvolver-se e desencadear reações de degradação, além da ação de enzimas. A temperatura de 70 °C é suficientemente alta para inativar enzimas e micro-organismos presentes, promovendo a secagem sem a degradação dos lipídios.

A Tabela 8 apresenta a ANOVA para os resultados da porcentagem ômega-3 em função das variáveis temperatura (T) e tempo (t).

Tabela 8 ANOVA para os resultados da porcentagem ômega-3 em função das variáveis temperatura (T) e tempo (t)

	Soma dos Quadrados	DF	Quadrado médio	Valor de F	Probabilidade > F
t ²	1,69976	1	1,69976	112,511	0,000000
T	39,14052	1	39,14052	2590,806	0,000000
T ²	0,25808	1	0,25808	17,083	0,001178
t x T	5,85856	1	5,85856	387,792	0,000000
Falta de ajuste	0,84171	4	0,21043	13,929	0,000125
Erro puro	0,19640	13	0,01511		
SS total	48,52519	21			

T = temperatura (°C), t = tempo (min).

Segundo a ANOVA, a variável quadrática do tempo, a soma das variáveis linear e quadrática da temperatura e o efeito da interação do tempo e temperatura, apresentaram efeito significativo na porcentagem de ômega-3 para o processo de secagem em estufa de circulação de ar

forçado de resíduo de pescada, ao nível de 5 % de significância. O efeito da interação tempo e temperatura indica que o efeito tempo depende da temperatura e vice-versa.

O gráfico de pareto, apresentado na Figura 10, confirma o efeito das variáveis temperatura linear, tempo quadrática, temperatura quadrática e a interação das variáveis tempo e temperatura como significativas na porcentagem relativa dos ácidos graxos ômega-3 no processo de secagem em estufa de circulação de ar forçado.

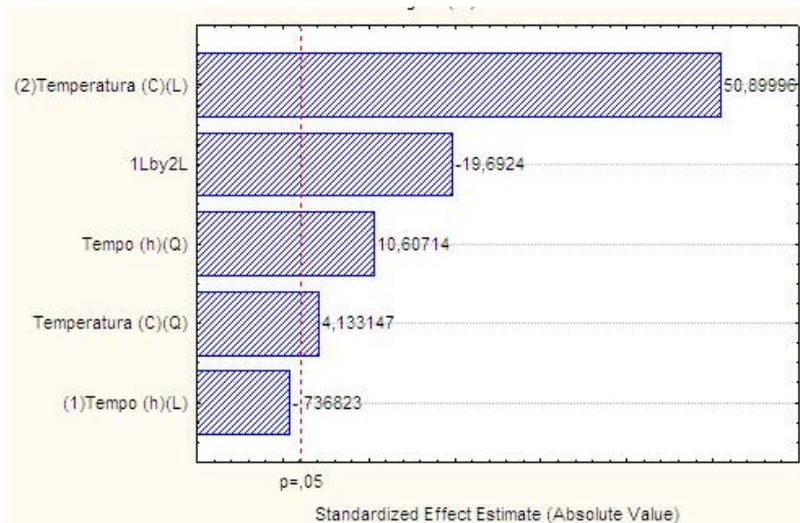


Figura 10 Gráfico de pareto para a resposta ômega-3 (%)

Para modelar os dados do experimento, optou-se por um modelo com os termos linear e quadrático e que incluía também as interações entre as variáveis lineares de temperatura e tempo. O efeito da variável linear tempo não foi significativo ao nível de 5 % de significância segundo ANOVA (Tabela 8 e Figura 10), logo, foi ignorado no modelo.

A Figura 11 apresenta a superfície de resposta da influência das variáveis tempo e temperatura na porcentagem de ácidos graxos ômega-3. Pode observar-se, pela Figura 11, que os maiores teores de ômega-3 encontrados situam-se na região de temperatura e tempo de 70 °C e 10 h, respectivamente.

O modelo proposto para representar a dependência da porcentagem de ômega-3 com o tempo (x_i) e a temperatura (x_{ii}), ou seja, % ômega-3= $f(x_i, x_{ii})$ é dado pela Equação 22:

$$\% \hat{\omega} - 3 = -0,40780 + 0,0012t^2 + 0,7210T - 0,0043T^2 - 0,0014tT \quad (22)$$

A Equação 16 foi obtida a partir da superfície de resposta e apresentou um R^2 de 0,978, sendo portanto um bom ajuste. A mesma pode ser aplicada para prever os valores da porcentagem de $\hat{\omega} - 3$ obtidos em outras condições de tempo e temperatura, entretanto tais condições devem estar dentro dos intervalos estudados neste experimento.

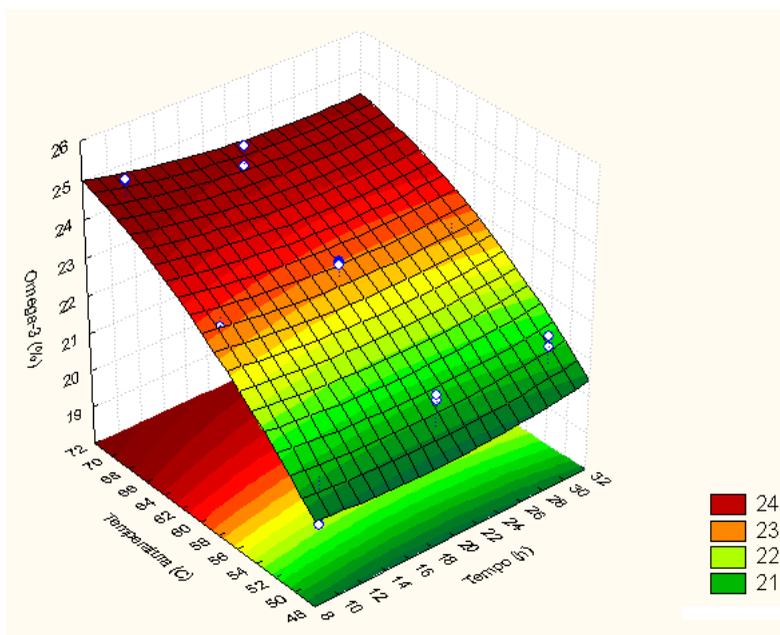


Figura 11 Superfície de resposta da influência do tempo e temperatura na porcentagem de ácidos graxos $\hat{\omega} - 3$ na secagem em estufa de circulação de ar forçado de resíduo de pescada-olhuda

5.2.1 Caracterização da ASPO-L1

A ASPO-L1 foi caracterizada pelas mesmas análises realizadas na APP-L1 a fim de verificar o efeito do processo de secagem na composição centesimal, quantificação de ácidos graxos, análises microbiológicas, acidez e SRATB.

A Tabela 9 apresenta a composição centesimal da ASPO-L1.

A secagem dos resíduos na condição otimizada (70 °C e 10 h) reduziu notavelmente o conteúdo de umidade no material. Essa redução é importante uma vez que aumenta o rendimento das posteriores etapas de extração.

Tabela 9 Composição centesimal (g/100 g) da ASPO-L1

Parâmetro	Porcentagem
Umidade e compostos voláteis	3,5±0,1
Resíduo mineral fixo	21,3±0,2
Proteína bruta	58,7±0,3
Lipídios totais	14,7±0,5

ASPO-L1: amostra seca em ponto ótimo do lote 1. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas.

Como esperado, os teores de proteína bruta e lipídios totais aumentaram com a redução da umidade na amostra. Os valores de proteína bruta e lipídios totais foram maior e menor, respectivamente, do que os encontrados por Stevanato et al. (2010), de 38,41 % de proteína e 35,46 % de lipídios totais, em farinha de cabeça de tilápia.

A Tabela 10 apresenta a quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da ASPO-L1. A ASPO-L1 apresentou o mesmo perfil de ácidos graxos da APP-L1, com pequenas variações de concentração. É fato que a concentração de ácidos graxos (AG total) foi maior para a ASPO-L1, mas possivelmente esta diferença pode ser atribuída à eficiência do método de extração empregado (Bligh e Dyer, 1959) em função de diferenças na estrutura da matriz a ser extraída ocasionado pelo processo de secagem. Sendo assim, comparar os resultados do perfil de ácidos graxos da APP-L1 e ASPO-L1 em termos de concentração absoluta (mg/g de óleo) pode levar a interpretações errôneas sobre a influência da secagem no perfil de ácidos graxos da amostra.

Tabela 10 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da ASPO-L1

Ácidos graxos	Concentração (mg/g)
14:0	45,2±0,7
15:0	5,2±0,1
16:0	202±5
16:1n-9	71±1
17:0	7,5±0,3
18:0	45±1
18:1n-9	189±5
18:1n-7	32±2
18:2n-6	10,5±0,3
18:3n-3 (LNA)	8,5±0,4
20:0	11,6±0,3
20:1n-9	22±1
20:3n-3	9,7±0,9
22:1n-9	5±3
20:5n-3 (EPA)	48±1
24:1n-9	6,2±0,9
22:4n-3	7,1±0,4
22:5n-3	13,3±0,3
22:6n-3 (DHA)	131±3
Somatórios e Razões	Resultados
AGS	317±6
AGM	326±8
AGPI	228±5
AG total	870±20
n-3	217±5
n-6	10,4±0,3
n-6/n-3	0,05±0,00
AGPI/AGS	0,72±0,01

ASPO-L1: amostra seca em ponto ótimo do lote 1. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

A Tabela 11 apresenta os resultados das análises microbiológicas da ASPO-L1.

Tabela 11 Resultados das análises microbiológicas da ASPO-L1

	ASPO-L1
Coliformes totais (NMP/g)	< 3
Coliformes fecais (NMP/g)	< 3
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	< $1,0 \times 10^2$
<i>Salmonella</i> spp /25 g	Ausente

ASPO-L1: amostra seca em ponto ótimo do lote 1. Valores expressos em UFC/g (unidade formadora de colônia por grama) e NMP/g (número mais provável por grama).

Foi observado um decréscimo de aproximadamente três vezes no número mais provável de coliformes totais. Os coliformes fecais e contagem de *Bacillus cereus* não foram influenciados pelo processo de secagem. O número mais provável de coliformes fecais está de acordo com o estabelecido pela ANVISA (2001) para produtos pré-cozidos de peixes (máximo de 1×10^2 NMP g⁻¹). *Salmonella* spp. havia sido detectada na APP-L1, entretanto o processo de secagem foi eficiente para a destruição deste micro-organismo.

Os indicadores de oxidação lipídica, SRATB e acidez em ácido oleico da ASPO-L1 foram de 143 (± 2) mg de equivalente de malonaldeído/kg de lipídios totais e 15 (± 2) % em ácido oleico, respectivamente. O processo de secagem nas condições otimizadas promoveu um aumento somente no valor de acidez em ácido oléico, porém este incremento não foi considerado significativo pelo teste de Tukey a 5 % de significância. Esse resultado, juntamente com os dados de composição em ácidos graxos na APP-L1 e ASPO-L1 permite inferir que o processo de secagem nas condições otimizadas preserva os ácidos graxos essenciais de interesse nutricional, além de não desencadear reações que foram subprodutos de oxidação lipídica, como ácidos graxos livres e malonaldeído.

5.3 Extração supercrítica

5.3.1 Caracterização da APP-L2

Para a realização dos ensaios de extração supercrítica de rendimento global, cinética e aumento de escala foi utilizado o segundo lote de resíduo de pescada olhada, a APP-L2. A APP-L2 foi submetida à secagem em estufa nas condições otimizadas, gerando a ASPO-L2. As composições centesimais da APP-L2 e ASPO-L2 são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 Composições centesimais (mg/g) da APP-L2 e ASPO-L2

Parâmetro	APP-L2	ASPO-L2
Umidade e compostos voláteis	71,9±0,5	5,2±0,2
Resíduo mineral fixo	6,0±0,3	18,9±0,6
Proteína bruta	14,3±0,7	51,6±0,9
Lipídios totais	4,3±0,1	17,4±0,5

APP-L2: amostra pré-processada do lote 2, ASPO-L2: amostra seca em ponto ótimo do lote 2. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas.

Os mesmos efeitos da secagem para os resíduos do lote 1 foram observados na secagem dos resíduos do segundo lote. Houve uma expressiva diminuição do conteúdo umidade e voláteis da amostra, seguido de uma concentração do resíduo mineral fixo, proteína e lipídios totais. A umidade final da ASPO-L2 obtida na secagem é adequada para o processo de extração supercrítica.

A composição em ácidos graxos das amostras APP-L2 e ASPO-L2 é dada na Tabela 13.

De maneira geral, o mesmo comportamento da composição em ácidos graxos da APP-L1 frente à secagem foi observado para a APP-L2. Ao analisar os resultados em termos de porcentagem relativa, pode-se verificar que a porcentagem de ácidos graxos ômega-3 foi de 26,7 % na APP-L2 para 24,8 % na ASPO-L2, sendo assim, verifica-se que o processo de secagem otimizada preservou os ácidos graxos de interesse nutricional da amostra.

Tabela 13 Quantificação absoluta em mg/g dos lipídios totais da APP-L2 e ASPO-L2

Ácido graxo	APP-L2	ASPO-L2
14:0	35±3	39 ±1
15:0	3,0±0,8	4,5±0,5
16:0	175±14	202±8
16:1n-9	44±4	73±3
17:0	5,1±0,6	8±4
18:0	33±2	41±2
18:1n-9	160±10	185±7
18:1n-7	17±1	20,4±0,9
18:2n-6	7,5±0,6	8,4±0,4
18:3n-3	4,2±0,3	4,9±0,2
20:0	3,6±0,7	5,0±0,3
20:1n-9	14±1	15,6±0,7
20:3n-3	7,5±0,8	10±1
22:1n-9	14±1	13,1±0,9
20:5n-3 (EPA)	40±2	45±2
24:1n-9	3,9±0,6	3,9±0,2
22:4n-3	5,4±0,7	5,8±0,5
22:5n-3	9,6±0,4	10,2±0,4
22:6n-3 (DHA)	121±6	129±6
AGS	195±9	213±9
AGMI	252±16	311±12
AGPI	254±19	299±11
AG total	701±43	823± 32
n-3	187±9	204±8
n-6	7,5±0,6	8,4±0,4
AGPI/AGS	1,30±0,04	1,41±0,01
n-6/n-3	0,04±0,00	0,04±0,00

APP-L2: amostra pré-processada do lote 2, ASPO-L2: amostra seca em ponto ótimo do lote 2. Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

A fim de comparar o desempenho das diferentes técnicas de extração, a ASPO-L2 foi submetida à extração Soxhlet com solvente hexano. O rendimento da extração por este método foi de $17,6 \pm 0,8$ % (m/m) e a quantificação dos ácidos graxos do extrato constam na Tabela 14.

Apesar de a extração Soxhlet empregar temperaturas relativamente altas e longo tempo de extração, somado a incidência de luz e presença de oxigênio, a concentração dos diferentes ácidos graxos encontrados no extrato foi muito semelhante ao obtido para a ASPO-L2. Quanto à porcentagem relativa dos ácidos graxos ômega-3 (n-3), foi encontrado um teor de 24,7 % para o extrato Soxhlet, valor estatisticamente igual ao encontrado na ASPO-L2, de 24,8 %.

Tabela 14 Quantificação dos ácidos (mg/g de óleo) graxos no óleo obtido por extração Soxhlet com solvente hexano

Ácido graxo	Concentração (mg/g óleo)
14:0	40±2
15:0	5±1
16:0	204±9
16:1n-9	69±10
17:0	10±5
18:0	39±2
18:1n-9	189±8
18:1n-7	21±2
18:2n-6	10±2
18:3n-3	5,4±0,5
20:0	4,8±0,7
20:1n-9	14±3
20:3n-3	7,4±0,8
22:1n-9	14,2±0,5
20:5n-3 (EPA)	46±2
24:1n-9	4,0±0,5
22:4n-3	5,4±0,9
22:5n-3	10,2±0,7
22:6n-3 (DHA)	131±3
Somatórios e razões	Concentração (mg/g de óleo)
AGPI	303±17
AGS	215±6
AGMI	312±18
AG total	830±41
n-3	205±5
n-6	10±2
AGPI/AGS	1,41±0,04
n-6/n-3	0,05±0,01

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

5.3.2 Determinação do rendimento global de ESC

5.3.2.1 Determinação do tempo de extração

Após 120 min de extração não foi mais observada saída de extrato no frasco coletor, sendo assim foi padronizado o tempo de ESC de 150 min para os ensaios de rendimento. Adicionalmente foi realizada uma avaliação visual da matriz sólida após o processo de ESC, com objetivo de verificar a possível formação de canais preferenciais, sendo que esta se apresentou com coloração homogênea tanto na direção radial como longitudinal, indicando assim a não formação de caminhos preferenciais (MARTÍNEZ, 2005).

5.3.2.2 Ensaios de rendimento global de ESC

A Tabela 15 apresenta as médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey ($p < 0,05$) do rendimento global (X_0) da ESC de óleo da ASPO-L2 em função das diferentes condições empregadas de pressão (P), temperatura (T) e respectivas massas específicas do CO_2 (ρ), obtidas a partir da equação de Angus, Armstrong and Reuck (1976).

Tabela 15 Rendimentos em óleo (X_0) em base seca e massas específicas do CO_2 (ρ) obtidos nas ESC do óleo da ASPO-L2 em função da pressão (P) e temperatura (T) à vazão de CO_2 de 0,0904 g/min

T (°C)	P (bar)	ρ (kg/m ³) ¹	X_0 (% b.s.)
30	200	891	17,5 ^a ±0,2
45	200	813	16,90 ^{ab} ±0,03
60	200	723	16,1 ^b ±0,3
30	250	922	17,8 ^a ±0,4
45	250	857	18,2 ^a ±0,2
60	250	787	17,2 ^{ab} ±0,1
30	300	948	17,3 ^{ab} ±0,5
45	300	890	18,2 ^a ±0,1
60	300	830	17,2 ^{ab} ±0,3

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em duplicata. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹ ANGUS; ARMSTRONG; REUCK (1976)

Conforme observado na Tabela 15, o maior rendimento de ESC obtido foi de 18,2 % para duas condições: de 250 bar e 45 °C e 300 bar e 45 °C, entretanto este valor é estatisticamente igual ($p < 0,05$) aos rendimentos obtidos nas demais condições, exceto para a condição de 200 bar e 60 °C, na qual foi verificado um rendimento de 16,1 %.

As condições isotérmicas (Figura 12) de 30 °C e 45 °C não apresentaram diferença significativa entre os rendimentos nas diferentes pressões avaliadas. Já a isoterma de 60 °C apresentou um aumento significativo no rendimento com o incremento da pressão de 200 bar para 250 bar. Assim, o rendimento neste caso aumentou com a pressão de operação e isto se dá devido ao aumento da massa específica do solvente supercrítico, aumentando o poder de solvatação deste (BRUNNER, 1994) nos compostos extraíveis da amostra.

Segundo Brunner (1994) em altas pressões, a mudança da massa específica com a temperatura é moderada, então o aumento na pressão de vapor é o fator dominante. Já a baixas pressões a perda do poder de solvatação do solvente induzido pela massa específica mais baixa prevalece. Estes dois efeitos contrários resultam na inversão das isotermas de rendimento, fenômeno conhecido como retrogradação. Conforme a Figura 12, neste estudo não foi verificada a ocorrência do fenômeno de retrogradação.

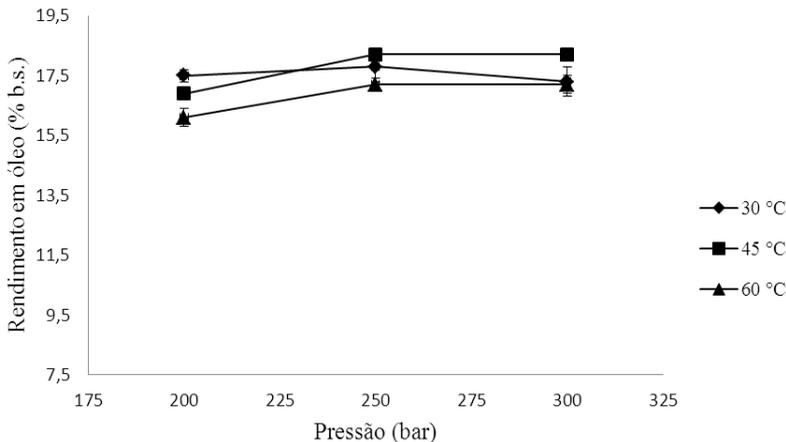


Figura 12 Isotermas de rendimento de extração supercrítica de óleo de resíduo de pescada-olhuda

Autores que estudaram a ESC de óleo de peixes como Özden (2000) e Esquível et al. (1997) definiram uma temperatura ótima de extração de 40 °C, enquanto Dunford; Goto e Temeli (1998) a definiram como 35 °C. Létisse et al. (2006) no entanto, verificou grande influência da temperatura no rendimento de extração, e encontrou uma temperatura ótima de 75 °C. Neste estudo, não foi verificada influência da temperatura no rendimento da extração dentro do intervalo avaliado, portanto foi definida como temperatura ótima aquela que resultaria num processo com menor demanda energética, sendo assim, a temperatura de 30 °C.

A pressão também não exerceu influência significativa ($p < 0,05$) no rendimento nas condições avaliadas. Existe uma grande disparidade entre os resultados apresentados na literatura quanto à influência da pressão no rendimento de extração de óleo de peixe. Esquível (1997) determinou uma pressão ótima de ESC de 180 bar, enquanto Dunford; Goto e Temeli (1998) a definiram como 345 bar. Özden (2000) obteve o maior rendimento na maior pressão empregada, correspondendo a 280 bar. Létisse et al. (2006), com auxílio de uma ferramenta estatística de otimização, definiu como 300 bar a pressão ótima. Já Rubio-Rodríguez et al. (2008) concluiu que as pressões de 250 bar, 500 bar e 570 bar não apresentaram diferenças quanto ao rendimento em óleo e portanto definiu como pressão ótima aquela que resultaria em menor gasto em um processo industrial. Neste estudo, foi utilizado o mesmo critério de escolha empregado por Rubio-Rodríguez et al. (2008), e a pressão ótima de extração foi definida como 200 bar.

É importante observar que a faixa de pressão e temperatura empregadas nos experimentos de rendimento de ESC possivelmente já se encontrava em sua região ótima, uma vez que os rendimentos obtidos nos diferentes ensaios além de estarem próximos do teor de lipídios totais determinado anteriormente pelo método de extração Bligh e Dyer (1959) (Tabela 11), pouco diferiram entre si.

5.3.2.3 Composição de ácidos graxos dos extratos

A Tabela 16 apresenta as médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey ($p < 0,05$) da concentração dos ácidos graxos (mg/g de óleo) dos extratos obtidos da ESC da ASPO-L2 em função das diferentes condições empregadas de pressão (P) e temperatura (T).

Foram identificados 19 ácidos graxos nos extratos de ESC (Tabela 17). Os majoritários foram os ácidos palmítico (16:0), oléico (18:1n-9) e DHA. Verificou-se predomínio do DHA e EPA entre os

ácidos graxos da família ômega-3, comportamento também observado para os extratos obtidos a partir da APP-L2 e ASPO-L2 pela técnica de Bligh e Dyer (1959) (Tabela 12).

Entre os extratos obtidos da ESC nas diferentes condições de temperatura (T) e pressão (P), foi verificada diferença significativa para a concentração dos ácidos 14:0, 15:0, 17:0, 20:0, 20:1 n-9 e 22:4 n-3. Por outro lado não foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos somatórios dos AGS, AGPI, AGMI, n-6 e n-3, conforme apresentados na Tabela 17.

Sendo assim, pode-se inferir que as diferentes condições de pressão e temperatura empregadas na ESC não influenciaram na concentração de ácidos graxos da família ômega-3 dos extratos. Tal resultado já era esperado, uma vez que para todas as condições empregadas na ESC, foram obtidos rendimentos próximos a 100 % (em base óleo), e uma suposta variação da concentração dos ácidos graxos ficaria restrita a processos oxidativos decorrentes das temperaturas empregadas. Létisse et al. (2006), entretanto, concluiu que a ESC de óleo de peixe à temperatura de 75 °C não desencadeou oxidação lipídica no extrato.

Tabela 16 Concentração dos ácidos graxos (mg/g de óleo) dos óleos extraídos por ESC de ASPO-L2 nas diferentes condições de temperatura (T) e pressão (P) empregadas à vazão de CO₂ de 0,0904 g/min

	200 bar 30 °C	200 bar 45 °C	200 bar 60 °C	250 bar 30 °C	250 bar 45 °C	250 bar 60 °C	300 bar 30 °C	300 bar 45 °C	300 bar 60 °C
14:0	50,7 ^{ab} ±0,3	54 ^a ±3	52 ^{ab} ±2	48 ^{ab} ±2	53 ^{ab} ±2	50 ^{ab} ±1	47 ^{ab} ±2	48 ^{ab} ±4	45 ^a ±2
15:0	5,7 ^{ab} ±0,4	5,3 ^{ab} ±0,4	3 ^b ±2	4,2 ^{ab} ±0,5	7,0 ^a ±0,2	11 ^c ±1	4,2 ^{ab} ±0,7	4,2 ^{ab} ±0,9	4,99 ^{ab} ±0,02
16:0	206±10	214±5	220,0±0,6	212±1	214±6	215±3	206±2	217±6	208±7
16:1n-9	83±5	73±5	81±11	84±2	87±3	80±4	81±2	86±7	82±3
17:0	12 ^{ab} ±4	10 ^{ab} ±3	5 ^a ±3	7,6 ^{ab} ±0,2	11 ^{ab} ±1	15,5 ^b ±0,7	12 ^{ab} ±1	13,7 ^{ab} ±0,2	12 ^{ab} ±3
18:0	37±2	35±2	38±2	39,2±0,7	34±3	35±2	38±1	38±2	39±2
18:1n-9	180±17	191±4	199±2	194±3	192±2	193,4±0,6	195±3	196±3	194±8
18:1n-7	19±4	21,2±0,9	19±4	21,17±0,09	18,3±0,2	20,92±0,07	20,5±0,3	21,4±0,2	21,2±0,9
18:2n-6	12±3	9±2	9,16±0,04	8,9±0,2	9,3±0,2	8,7±0,8	9,1±0,4	8,9±0,3	8,4±0,6
18:3n-3	5,7±0,4	6,1±0,9	6,1±0,4	5,7±0,1	5,9±0,3	5±1	5,6±0,3	5,9±0,6	5,6±0,4
20:0	3 ^a ±1	8,8 ^b ±0,4	4,3 ^{ab} ±0,3	5,17 ^{ab} ±0,09	3 ^a ±3	5 ^{ab} ±1	3,5 ^a ±0,3	4,7 ^{ab} ±0,1	4 ^{ab} ±2
20:1n-9	15 ^{ab} ±1	13 ^{ab} ±1	18 ^a ±5	16 ^{ab} ±1	11 ^{abc} ±1	8 ^{abc} ±5	1,6 ^c ±0,2	12 ^{abc} ±2	5 ^{bc} ±3
20:3n-3	9±3	9,71±0,06	10±1	10±1	8,4±0,6	8±1	9,4±0,9	9,1±0,5	7,9±0,2
22:1n-9	13,4±0,4	12±1	13,8±0,3	15,1±0,1	14±1	13±2	15,0±0,7	14,82±0,09	15,4±0,6
20:5n-3	49,3±0,2	51±2	51±2	50±1	52,7±0,8	50±1	50±3	50±0,7	49±4

24:1n-9	3,9±0,8	1,7±0,4	2,1±0,3	3,1±0,1	3,7±0,5	2,2±0,7	3,3±0,4	3,9±0,2	2±1
22:4n-3	5 ^{ab} ±1	2,0 ^a ±0,7	9 ^b ±4	5,8 ^{ab} ±0,3	4 ^{ab} ±2	5 ^{ab} ±2	5,56 ^{ab} ±0,01	3,8 ^{ab} ±0,5	8,1 ^{ab} ±0,6
22:5n-3	11±1	9±1	10,28±0,06	10,9±0,6	10,5±0,3	10,2±0,5	11±1	10,6±0,3	11±0,6
22:6n-3	121,2±0,9	121±9	129±6	134±6	134±5	129±5	134±7	133±2	135±10

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A ausência de letras na mesma linha indica que não foi encontrada diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 17 Somatórios (mg/g de óleo) e razões dos ácidos graxos extraídos por ESC da ASPO-L2 nas diferentes condições de pressão (P) e temperatura (T) à vazão de CO₂ de 0,0904 g/min

	200 bar 30 °C	200 bar 45 °C	200 bar 60 °C	250 bar 30 °C	250 bar 45 °C	250 bar 60 °C	300 bar 30 °C	300 bar 45 °C	300 bar 60 °C
AGS	314±5	327±12	322±4	316±3	322±8	331±4	311±3	326±13	313±16
AGM	315±15	312±13	332±10	333±3	326,6±0,4	317±11	316±1	334±8	319±17
AGPI	212,8±0,5	208±16	225±11	227±9	225±8	216±9	225±11	221,8±0,8	225±16
AG	842±21	848±42	880±25	875±9	874±16	865±17	851±16	882±22	857±49
n-3	201±3	199±14	216±10	218±9	216±9	207±9	215±11	212,9±0,4	217±16
n-6	12±3	9±2	9,16±0,04	8,8±0,2	9,3±0,2	8,7±0,8	9,1±0,4	8,9±0,3	8,41±0,6
n-6/n-3	0,06±0,01	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00
AGPI/AGS	0,68±0,01	0,64±0,03	0,70±0,02	0,72±0,04	0,70±0,01	0,65±0,04	0,72±0,03	0,68±0,02	0,72±0,01

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A ausência de letras na mesma linha indica que não foi encontrada diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

Ao compararmos a média das concentrações de ácidos graxos ômega-3 de todos os extratos obtidos nos diferentes experimentos de ESC com a média de ácidos graxos ômega-3 obtida pelo método de Bligh e Dyer (1959) da ASPO-L2, 211 ± 7 mg/g óleo e 204 ± 8 mg/g óleo, respectivamente, podemos concluir que o processo de extração supercrítica não promoveu a degradação dos mesmos. Isto se deve principalmente a ausência de luz e oxigênio durante o processo de ESC, resultando em extratos de maior qualidade, além de não apresentar resíduos de solvente como os extratos obtidos pelo método Soxhlet.

5.3.3 Cinética e modelagem da ESC

A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos na caracterização do leite de partículas os quais foram utilizados para a modelagem dos dados experimentais.

Tabela 18 Características do leite de partículas utilizados para a modelagem da ESC

Parâmetro	Resultado
Massa específica real (g/cm^3)	1,3377
Massa específica aparente (g/cm^3)	$0,92 \pm 0,03$
Porosidade do leite (-)	$0,31 \pm 0,03$

As curvas de ESC para as diferentes vazões de CO_2 estão apresentadas na Figura 13 e os dados das massas obtidas em função do tempo estão apresentadas no Apêndice III.

Nas duas curvas apresentadas na Figura 13, observa-se um comportamento característico de curva de cinética de ESC. O processo inicia com um período com taxa de extração constante (CER), sendo que esta etapa é caracterizada pela extração dos compostos prontamente disponíveis ao solvente. Quando o soluto de fácil acesso começa a se esgotar, a difusão intraparticular torna-se o principal mecanismo de transferência de massa na ESC. Desta forma, as curvas de extração assumem um formato típico de uma curva de difusão, com diminuição da taxa de extração, até que o rendimento global (X_0) é atingido.

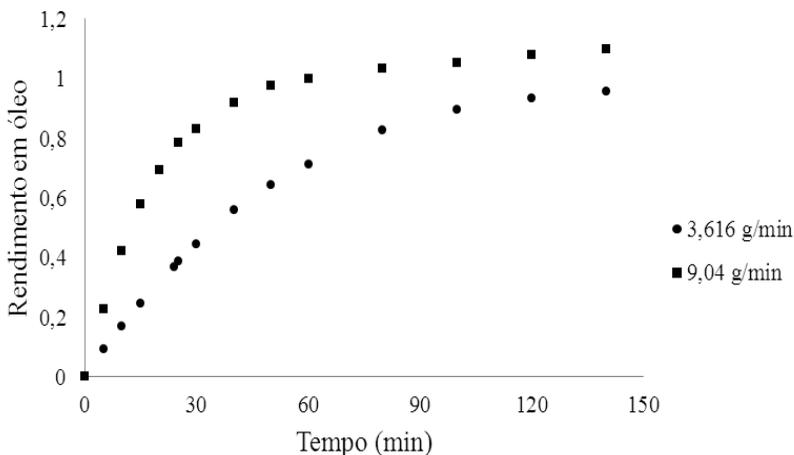


Figura 13 Curvas de cinética de ESC do óleo da ASPO-L2 avaliando efeito de diferentes vazões de CO_2

Ainda na Figura 13, ao se observar as curvas obtidas com diferentes vazões pode-se verificar que o aumento na vazão ocasionou uma inclinação maior da primeira parte da curva, correspondente a etapa CER. Segundo Marrone et al. (1998), durante a primeira parte do processo de extração, a massa de óleo extraída é independente tanto do tamanho da partícula como da vazão de solvente aplicada a esta etapa da extração. A maior disponibilidade de solvente no extrator por unidade de tempo proporciona um maior gradiente de concentração entre o sólido e o solvente, ocasionando maior taxa de transferência de massa. Isto acontece pela diminuição da resistência à transferência de massa como resultado do aumento da convecção, causado pela não saturação do CO_2 pelo soluto.

Quando se observam graficamente os rendimentos obtidos nas curvas (Figura 13) pode-se verificar o rendimento é maior para a curva com Q_{CO_2} de 9,04 g/min do que para a curva com vazão de 3,616 g/min. Segundo Jochmann (2000), o aumento no rendimento da extração com o aumento da vazão deve-se à maior velocidade com que o solvente escoar no leito, diminuindo a espessura do filme que envolve a partícula sólida e consequentemente a resistência à transferência de massa.

5.3.4 Modelagem matemática das curvas de ESC

As Figuras 14 e 15 apresentam os dados experimentais e modelados obtidos para a ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda a 200 bar e 30 °C e vazão de CO₂ de 3,616 g/min e 9,04 g/min, respectivamente. Os modelos empregados foram a aplicação da 2ª Lei de Fick, Sovová (1994) e Martínez et al. (2003).

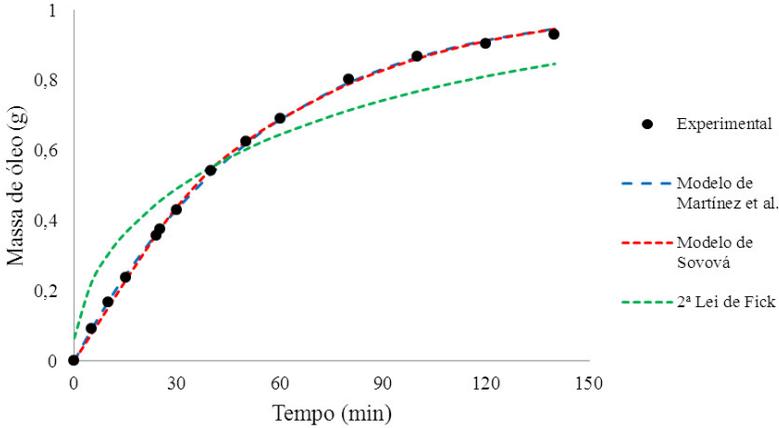


Figura 14 Curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 experimentais e modeladas à pressão de 200 bar, temperatura de 30 °C e vazão de CO₂ de 3,616 g/min

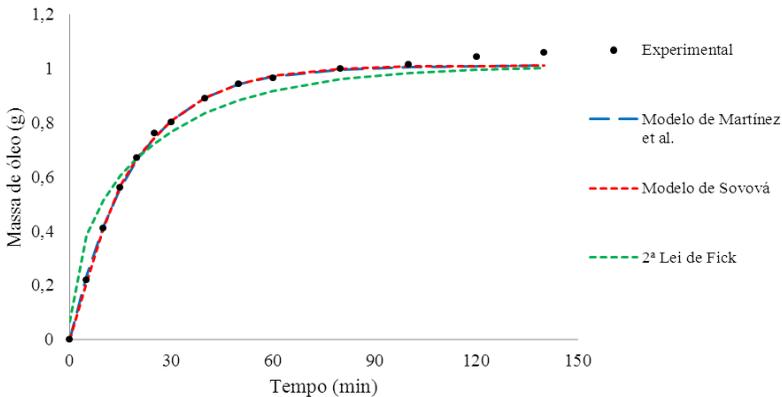


Figura 15 Curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 experimentais e modeladas à pressão de 200 bar, temperatura de 30 °C e vazão de CO₂ de 9,04 g/min

A Tabela 19 apresenta os coeficientes, parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) obtidos para os modelos utilizados.

Tabela 19 Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dor erros (SQR) dos modelos obtidos por modelagem das curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 em diferentes vazões (Q_{CO_2})

Curva		1	2
P (bar)/ T (°C)/ Q_{CO_2} (g/min)		200/30/3,161	200/30/9,04
Crank	D (m ² /s)	$2,15 \cdot 10^{-12}$	$7,27 \cdot 10^{-12}$
	SQR	$1,12 \cdot 10^{-7}$	$6,32 \cdot 10^{-8}$
Martínez	b (s ⁻¹)	0,0003	0,0009
	t_{mi} (s)	-7092,03	-4400,86
	SQR	$7,84 \cdot 10^{-10}$	$4,31 \cdot 10^{-9}$
Sovová	t_{CER} (s)	1047,90	367,88
	X_k	0,10040	0,0936
	$k_{y,a}$ (s ⁻¹)	0,01444	0,0421
	$k_{x,a}$ (s ⁻¹)	0,00037	0,00098
	SQR	$1,19 \cdot 10^{-9}$	$3,95 \cdot 10^{-9}$

D = Coeficiente de difusão (2ª Lei de Fick); b e t_{mi} = Parâmetros ajustáveis do modelo de Martínez et al. (2003); t_{CER} = Duração da etapa CER; X_k = Razão mássica de soluto de difícil acesso; $k_{x,a}$ = Coeficiente de transferência de massa na fase sólida e $k_{y,a}$ = Coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

Através da visualização das curvas das Figuras 14 e 15 e dos SQR apresentados na Tabela 19, pode-se dizer que os modelos que melhor se ajustaram às curvas de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda foi o de Martínez et al. (2003) para a vazão de CO₂ de 3,616 g/min e o de Sovová (1994) para a vazão de CO₂ de 9,04 g/min.

De maneira geral, para a modelagem do processo de extração faz-se necessário o conhecimento de variáveis do processo. Em especial na aplicação do modelo de Sovová, esses parâmetros são a solubilidade (Y^*), densidade do solvente (ρ), dados específicos da matéria-prima e do leite da partícula, e ainda, dados específicos da curva de extração a ser modelada, como o X_0 (razão mássica de extrato na matéria-prima) que, no caso do modelo de Sovová (1994), é calculado a partir da matéria-prima inerte.

O modelo de Sovová (1994) apresenta bons resultados quando as curvas experimentais têm um período de taxa constante de extração bem definido e sua principal vantagem é a descrição do fenômeno que ocorre no processo de ESC, o que confere significado físico aos parâmetros ajustáveis. Por outro lado, este modelo é limitado aos sistemas onde a solubilidade do soluto no solvente é conhecida à temperatura e pressão do processo (SOUSA et al., 2005).

Novamente visualizando os dados da Tabela 18, pode-se identificar que o valor da constante $k_{y,a}$ aumenta com o aumento da Q_{CO_2} , já que esta constante representa o coeficiente de transferência de massa na fase fluida ($k_{y,a}$), o qual é afetado pela velocidade de escoamento do fluido. Da mesma forma, o valor da constante $k_{x,a}$ aumentou com o aumento da Q_{CO_2} porém com menor intensidade, já que o coeficiente de transferência de massa na fase sólida não sofre a influência da vazão do solvente.

Os valores do coeficiente de transferência de massa na fase sólida ($k_{x,a}$) foram inferiores aos valores do coeficiente de transferência de massa na fase fluida ($k_{y,a}$) para as duas curvas avaliadas. Segundo Weinhold et al. (2008), o soluto localizado internamente nas partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido e, desta forma, leva mais tempo para atravessar a interface entre sólido e fluido que o soluto localizado na superfície das partículas. Assim, os menores $k_{x,a}$ obtidos indicam que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado com a convecção na ESC de resíduo de pescada-olhuda.

A mesma observação da influência da vazão de solvente sobre o $k_{y,a}$ e $k_{x,a}$ foi relatada por Campos (2005), na ESC de bagaço de uva *Cabernet Sauvignon*, Ribeiro (2007), na obtenção de polifenóis antioxidantes do bagaço de maçã e por Mezzomo (2008) ao avaliar a ESC de amêndoa de pêssego.

A aplicação da 2ª Lei da Difusão considera que o processo de extração é controlado unicamente pela difusão. Este modelo foi o que apresentou o pior ajuste em relação aos outros avaliados, provavelmente por desconsiderarem ambos os diferentes mecanismos de transferência de massa (convecção e difusão), ao contrário dos demais modelos, conforme já observado por Campos et al. (2005).

O modelo de Martínez et al. (2003) ajustou bem os dados experimentais, provavelmente devido a presença de dois parâmetros ajustáveis, b e t_m . Ele é baseado no balanço diferencial de massa dentro do leito, considerando fenômenos de transferência de massa que ocorrem na fase sólida e na fase fluida. O parâmetro ajustável t_m corresponde ao tempo em que a taxa de extração é máxima, porém as

curvas modeladas apresentaram o valor negativo para este parâmetro, perdendo desta forma seu significado físico. Nestes casos, a taxa de extração é decrescente, ou seja, tem o seu valor máximo no instante inicial da extração, no tempo igual a zero (MARTÍNEZ et al., 2003).

5.3.5 Avaliação do perfil de ácidos graxos com o tempo de extração

O perfil de ácidos graxos (porcentagem relativa) e somatório e razões dos ácidos graxos dos extratos nos diferentes pontos de cinética da ESC de óleo de resíduo de pecada-olhuda nas condições de 200 bar, 30 °C e 18,08 g CO₂/min constam na Tabela 20 e 21 respectivamente.

Observando-se a Tabela 20, em especial a porcentagem de DHA, nos diferentes tempos de ESC, verifica-se um aumento significativo do mesmo, variando de 12,9 % a 18,11 %. O EPA não apresentou diferenças significativas de concentração no extrato ao longo do tempo de extração e sua concentração foi de 6,10 % para o tempo de 5 min e 5,77 % para o tempo de 80 min. Létisse et al. (2006), concluiu que o teor de DHA nos extratos obtidos por ESC a partir de cabeças de sardinha, é influenciado diretamente pelo tempo de extração, entretanto o tempo não pareceu influenciar o teor de EPA. Os resultados encontrados por Létisse et al. (2006) estão de acordo com os obtidos neste estudo.

Analisando-se a Tabela 21, fica evidente um aumento da porcentagem dos ácidos graxos ômega-3 ao longo do tempo de extração. No início da ESC, o extrato apresentava 22,2 % de ômega-3, alcançando 28,2 % aos 80 min de ESC. Este aumento na concentração de ômega-3 nos extratos ao longo dos diferentes tempos de extração também foi verificado por Esquível et al. (1997).

Tabela 20 Perfil de ácidos graxos (porcentagem relativa) no óleo da ASPO-L2 ao longo do tempo de ESC a 200 bar, 30 °C e 18,08 g CO₂/min

	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	40 min	50 min	60 min	80 min
14:0	7,1 ^a ±0,3	6,3 ^{ab} ±0,3	6,0 ^{ab} ±0,1	3,7 ^{ab} ±0,3	5 ^{ab} ±1	5 ^{ab} ±1	5,95 ^{ab} ±0,01	4,8 ^{ab} ±0,1	4,9 ^{ab} ±0,5	3 ^b ±2
15:0	0,52±0,04	0,4±0,2	0,78±0,01	0,6±0,2	0,5±0,1	0,55±0,3	0,7±0,1	0,3±0,2	0,6±0,1	0,4±0,3
16:0	25±1	25,2±0,3	24,4±0,1	25±1	24±2	24,3±0,2	23,94±0,02	23,8±0,1	22±1	23,2±0,4
16:1n-9	12,5 ^a ±0,2	11,2 ^{ab} ±0,8	10,7 ^{abc} ±0,1	11,1 ^{ab} ±0,9	9,7 ^{bcde} ±0,5	10,2 ^{bcd} ±0,3	9,3 ^{cde} ±0,2	8,71 ^{de} ±0,04	8,27 ^e ±0,02	8,0 ^e ±0,4
17:0	2,2±0,2	1,3±0,7	2,2±0,6	1,0±0,2	1,3±0,7	1,0±0,5	1,6±0,5	0,8±0,3	1,86±0,08	0,8±0,8
18:0	4±1	4,1±0,6	4,3±0,7	3±1	4,3±0,6	3,9±0,4	4,8±0,1	4,1±0,2	5,7±0,4	4±1
18:1n-9	21,5±0,7	22,3±0,2	21,1±0,3	22±1	21,8±0,8	21,9±0,2	21,7±0,5	22,5±0,4	21,1±0,2	22,3±0,8
18:1n-7	1,92±0,01	2,26±0,09	1,9±0,5	2,1±0,2	2,31±0,08	1±1	1,0±0,2	2,60±0,01	1,8±0,1	2,1±0,1
18:2n-6	1,2±0,5	1,0±0,2	1,6±0,4	1,5±0,3	1,3±0,5	1,4±0,3	1,03±0,05	0,9±0,3	1,0±0,4	1,29±0,08
18:3n-3	0,8±0,1	0,8±0,1	0,8±0,2	0,7±0,6	0,8±0,5	0,3±0,1	0,5±0,1	0,56±0,07	0,7±0,2	0,8±0,1
20:0	0,3±0,4	0,33±0,05	0,5±0,1	1,0±0,9	0,60±0,01	0,5±0,3	0,76±0,08	0,53±0,09	0,6±0,5	0,9±0,1
20:1n-9	1,0 ^a ±0,2	1,3 ^{ab} ±0,1	1,34 ^{ab} ±0,08	1,5 ^{ab} ±0,2	1,7 ^{abc} ±0,2	1,7 ^{abc} ±0,4	1,7 ^{abc} ±0,2	1,89 ^{cb} ±0,00	2,01 ^{cb} ±0,09	2,3 ^c ±0,2
20:3n-3	1,2±0,2	1,12±0,08	1,0±0,2	1,0±0,1	1,2±0,2	1,2±0,3	1,0±0,2	1,0±0,2	1,08±0,03	1,06±0,04
22:1n-9	1,0 ^a ±0,2	1,18 ^{ab} ±0,04	1,6 ^{ab} ±0,6	1,6 ^{ab} ±0,6	1,7 ^{ab} ±0,4	1,9 ^{ab} ±0,3	2,0 ^{ab} ±0,2	1,85 ^{ab} ±0,04	2,68 ^b ±0,07	2,7 ^b ±0,9
20:5n-3	6,10±0,08	5,9±0,3	6,01±0,00	6,5±0,5	6,0±0,2	6,4±0,1	6,0±0,1	6,1±0,2	6,0±0,1	5,77±0,03
24:1n-9	0,27±0,01	0,35±0,03	0,34±0,00	0,3±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1	0,30±0,04	0,3±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1
22:4n-3	0,29 ^a ±0,03	0,24 ^a ±0,00	0,27 ^a ±0,05	0,4 ^{ab} ±0,1	0,38 ^{ab} ±0,03	0,36 ^{ab} ±0,03	0,53 ^{abc} ±0,04	0,75 ^{bc} ±0,06	0,74 ^{bc} ±0,01	0,8 ^c ±0,8

22:5n-3	0,89 ^a ±0,06	1,1 ^{ab} ±0,2	1,20 ^{ab} ±0,07	1,27 ^{abc} ±0,01	1,23 ^{ab} ±0,06	1,4 ^{bc} ±0,1	1,2ab±0,2	1,42 ^{bc} ±0,02	1,31 ^{abc} ±0,06	1,7 ^c ±0,1
22:6n-3	12,9 ^a ±0,1	13,58 ^{ab} ±0,01	13,98 ^b ±0,06	15,2 ^c ±0,3	15,6 ^{cd} ±0,5	16,22 ^{cd} ±0,07	16,0 ^{cd} ±0,3	17,4 ^{fg} ±0,2	17,0 ^{ef} ±0,3	18,11 ^g ±0,03

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em duplicata. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 21 Somatórios (porcentagem relativa) e razões dos ácidos graxos extraídos por ESC da ASPO-L2 longo do tempo de ESC à 200 bar, 30 °C e 18,08 g CO₂/min

	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	40 min	50 min	60 min	80 min
AGS	38,5 ^a ±0,2	37,7 ^{ab} ±0,5	38 ^{ab} ±1	34 ^{bc} ±1	36 ^{abc} ±1	36 ^{abc} ±2	37,8 ^{ab} ±0,7	34,3 ^{bc} ±0,1	35,9 ^{abc} ±0,8	32,7 ^c ±0,2
AGMI	38,1±0,5	38,6±0,8	37,0±0,3	39±1	38±1	37±2	35,9±0,5	37,8±0,2	36,3±0,4	37,8±0,1
AGPI	23,4 ^a ±0,7	23,7 ^a ±0,2	24,8 ^{ab} ±0,9	26,6 ^{cd} ±0,1	26,50 ^{cd} ±0,02	27,1 ^{cd} ±0,1	26,2 ^{bc} ±0,2	27,91 ^d ±0,09	27,9 ^d ±0,3	29,5 ^e ±0,4
n-3	22,2 ^a ±0,2	22,7 ^a ±0,01	23,2 ^a ±0,4	25,1 ^b ±0,4	25,2 ^b ±0,5	25,8 ^{bc} ±0,4	25,2 ^b ±0,1	27,0 ^{cd} ±0,2	26,84 ^c ±0,06	28,2 ^d ±0,4
n-6	1,2±0,5	1,0±0,2	1,6±0,4	1,5±0,3	1,3±0,5	1,4±0,3	1,03±0,05	0,9±0,3	1,0±0,4	1,29±0,08
n-6/n-3	0,06±0,02	0,04±0,01	0,07±0,02	0,06±0,01	0,05±0,02	0,05±0,01	0,04±0,00	0,03±0,01	0,04±0,02	0,05±0,00
AGPI/AGS	0,61 ^a ±0,02	0,63 ^a ±0,00	0,65 ^a ±0,04	0,7 ^{bc} ±0,04	0,74 ^{bcd} ±0,02	0,76 ^{bc} ±0,05	0,69 ^{acd} ±0,02	0,81 ^{be} ±0,00	0,78 ^{bc} ±0,03	0,90 ^c ±0,02

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas. Somatórios de ácidos graxos: AGPI (poli-insaturados), AGMI (monoinsaturados), AGS (saturados), AG total (total dos ácidos graxos). Razões entre grupos: n-6/n-3 (ômega-6/ômega-3), AGPI/AGS (poli-insaturados/saturados).

Como consequência do aumento da concentração de ômega-3 nos extratos, verifica-se também um aumento os ácidos graxos poli-insaturados, o que influencia diretamente as razões AGPI/AGS. Pode-se verificar na Tabela 21 que esta razão sofreu um incremento de cerca de 30 % ao longo de 80 min de ESC. Esquível et al. (1997), relatou o mesmo comportamento para os AGPI, sendo que a 126 bar e 40 °C, o total de ácidos graxos poli-insaturados passou de 384,9 g/kg de óleo quando 9 % do óleo havia sido extraído para 438,0 g/kg óleo quando 76 % do óleo havia sido extraído.

Em suma verificou-se uma maior extração dos ácidos graxos saturados nos primeiros minutos, diminuindo progressivamente ao longo do tempo de ESC, enquanto que o teor de ácidos graxos poli-insaturados aumentou com o tempo de extração. Hammam, Soderberg e Sivik (1991) estudaram a composição química de frações do óleo de manteiga obtidas por extração supercrítica com dióxido de carbono. De acordo com esses autores, os ácidos graxos menores foram extraídos preferencialmente no começo da extração. Sendo assim, os resultados obtidos neste estudo confirmam esta observação, além de indicar que a possibilidade de utilizar a extração supercrítica também como uma tecnologia de fracionamento e concentração de ácidos graxos.

A Figura 16 apresenta a curva de rendimento da extração de óleo e de ômega-3 com o tempo de ESC.

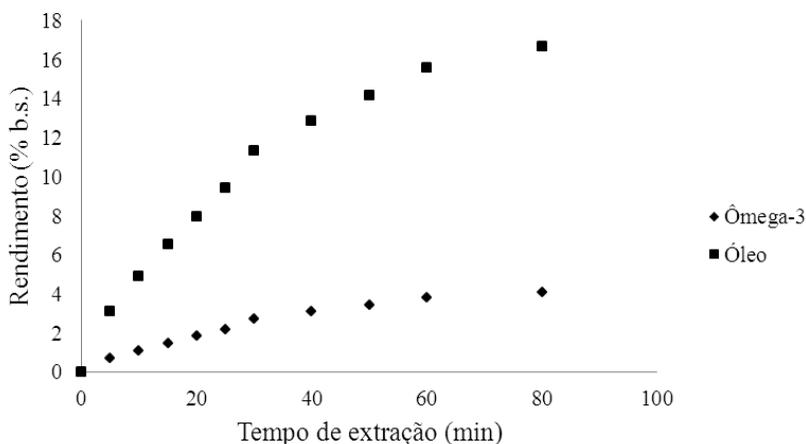


Figura 16 Rendimento da extração de ômega-3 ao longo do tempo de extração a 200 bar, 30 C e 18,08 g CO₂/min

Pode-se observar um aumento da concentração de ômega-3 no extrato conforme avança o tempo de extração. No começo da ESC, até aproximadamente dos 30 min, é observada uma maior taxa de extração de ômega-3, comportamento muito similar ao observado para as curvas de extração do óleo.

O modelo de Martínez et al. (2003) foi desenvolvido para tratar o extrato como uma mistura de compostos (pseudocomponentes), quando há extração diferenciada dos compostos ao longo do tempo. Sendo assim, esse modelo é ideal para o estudo da ESC de óleo de peixe, uma vez que o extrato pode ser considerado uma mistura de ácidos graxos de diferentes comprimento e grau de insaturação da cadeia carbônica, como os AGS, AGMI e AGPI e a taxa de extração de cada grupo varia com o tempo, conforme observa-se na Tabela 21.

5.3.6 Ampliação de escala

As curvas experimentais e modeladas para a proposta Q_{CO_2}/M constante de ampliação de escala (EG) e escala pequena (EP) para a extração de resíduo seco de pescada são dadas na Figura 17.

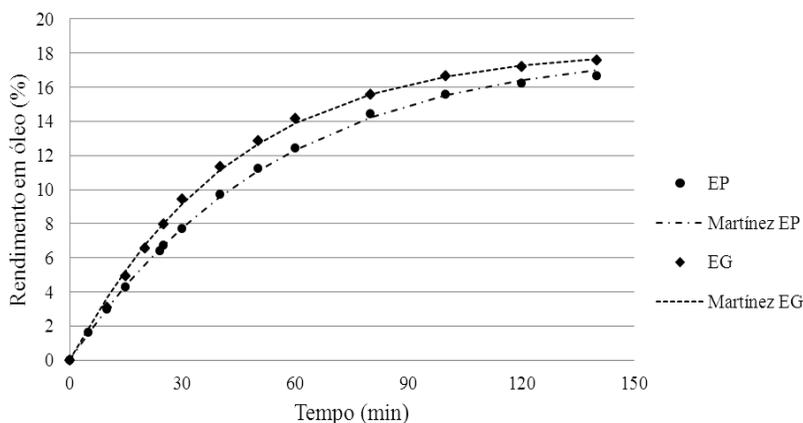


Figura 17 Curvas experimentais e modeladas para a proposta Q_{CO_2}/M constante de ampliação de escala (EG) e escala pequena (EP) para a extração de resíduo seco de pescada

Ao analisarmos a Figura 17, verifica-se que o critério de ampliação de escala empregado, de manter constante a razão Q_{CO_2}/M para o ensaio de grande escala foi satisfatório.

A modelagem da curva de AE foi realizada através dos modelos de Sovová (1994) e Martínez et al. (2003) por apresentarem os melhores ajustes na avaliação de modelos matemáticos na aplicação em curvas de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda e pelo claro significado físico dos parâmetros ajustáveis do modelo de Sovová no processo de ESC.

A Tabela 22 apresenta os coeficientes, parâmetros ajustáveis e os erros médios quadráticos (EMQ) obtidos para o modelo de Sovová (1994) e Martínez et al. (2003).

Tabela 22 Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) dos modelos obtidos por modelagem das curvas de ESC de óleo da ASPO-L2 na pequena escala e grande escala

Curva		EP	EG
P (bar)/ T (°C)/ Q_{CO_2} (g/min)		200/30/3,62	200/30/18,08
Martínez et al. (2003)	b (s ⁻¹)	0,0003	0,0004
	t _m (s)	-7092,03	-4400,85
	SQR	7,84.10 ⁻¹⁰	5,90.10 ⁻⁸
Sovová (1994)	t _{CER} (s)	1047,90	1014,47
	X _k	0,10040	0,07213
	k _{y,a} (s ⁻¹)	0,01444	0,00227
	k _{x,a} (s ⁻¹)	0,00037	0,000047
	SQR	1,19.10 ⁻⁹	2,09.10 ⁻⁸

D = Coeficiente de difusão (2ª Lei de Fick); b e t_{mi} = Parâmetros ajustáveis do modelo de Martínez et al. (2003); t_{CER} = Duração da etapa CER; X_k = Razão mássica de soluto de difícil acesso; k_{x,a} = Coeficiente de transferência de massa na fase sólida e k_{y,a} = Coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

A partir da visualização das curvas modeladas da Figura 17 e dos SQR apresentados na Tabela 22, pode-se dizer que o modelo de Martínez et al. (2003) ajustou bem as curvas de ESC de óleo de resíduo de pescada em escala pequena e ampliada. O melhor ajuste foi obtido pelo modelo de Martínez (2003) para a escala pequena e o pior ajuste foi apresentado pelo modelo de Sovová (1994) para a escala grande.

Sabe-se que a razão Q_{CO_2}/M , que foi mantida constante na proposta de AE é inversamente proporcional ao tempo de residência do

solvente no extrator, e deve ser conservada para o processo de ESC limitado pela difusão, especialmente interna. Os parâmetros do modelo de Sovová (1994), X_k , k_{ya} e k_{xa} obtidos na modelagem das curvas de ESC da EP e EG são diferentes, o que impossibilita atribuir significado físico aos mesmos. Por outro lado, pode-se observar pela Figura 18 grande semelhança entre as curvas de EP e EG, sendo que a principal diferença reside no rendimento global da extração, o que indica que a proposta de ampliação de escala empregada foi satisfatória para a reprodução do processo em escala industrial.

5.3.7 Estimativa de custos de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda

Para a análise de custos de ESC de óleo de resíduo de pescada considerou-se que a escala industrial apresenta o mesmo desempenho do que a obtida com a proposta de ampliação de escala utilizada neste estudo ($Q_{CO_2}/M = \text{cte}$). Os parâmetros avaliados pelo software Tecanalysis (ROSA; MEIRELES, 2005) para o cálculo de custos do processo foram conforme as referências apresentadas na seção 4.6:

- a) Investimento inicial: cálculo com intenção de processar os resíduos de pescado produzidos pela região de Florianópolis/SC, em especial pelo Mercado Público, Barra da Lagoa ou Pântano Sul;
 - a.1) Análise 1: US\$ 2.000.000,00 - unidade com 2 colunas de 500 L de procedência norte-americana;
 - a.2) Análise 2: US\$ 1.150.000,00 - unidade com 2 colunas de 500 L de procedência chinesa;
- b) Tempo total de operação anual: 7920 h/ano considerando jornadas de trabalho de 24 h/dia, durante 330 dias no ano;
- c) Custo de operadores: US\$ 3,00/h;
- d) Custo da matéria-prima sólida: US\$ 0;
- e) Custo com transporte: US\$ 0;
- f) Umidade inicial da matéria-prima: 71,9 %;
- g) Umidade final da matéria-prima: 5,2 %;
- h) Custos de moagem e secagem: US\$ 30,00/t matéria-prima;
- i) Custo do CO₂: US\$ 0,10/kg;
- j) Perda de CO₂ (em relação ao total utilizado em um ciclo): 2 % (considerando perda de CO₂ total durante a extração por dissolução no extrato após a separação ou nas partículas da matriz);

- k) Custo elétrico: US\$ 0,107 US\$/Mcal;
- l) Custo de refrigeração da água: US\$ 0,0837/Mcal;
- m) Custo de vapor saturado: US\$ 0,0133/Mcal;
- n) Depreciação: 10 %/ano;
- o) Custo de transporte: 0 (considerando que a unidade estaria na mesma localidade da empresa que gera o resíduo);
- p) Tempo de extração:
 - p.1) Análise 1: 5 min;
 - p.2) Análise 2: 10 min;
 - p.3) Análise 3: 15 min;
 - p.4) Análise 4: 20 min;
 - p.5) Análise 5: 25 min;
 - p.6) Análise 6: 30 min;
 - p.7) Análise 7: 40 min;
 - p.8) Análise 8: 100 min;
 - p.9) Análise 9: 140 min;
- q) Temperatura e pressão de operação: 30 °C e 200 bar (condições ótimas de extração obtidas nos ensaios de rendimento – seção 5.3.2.2);
- r) Pressão de separação: 40 bar (nesta condição considera-se que todo o extrato está na fase líquida);
- s) Vazão de CO₂: são necessários 181828,4 kg/h de CO₂ para manter constante a razão utilizada na proposta ampliação de escala ($Q_{CO_2}/M = cte$);
- t) Massa específica do leite: 920 kg/m³;
- u) Proposta de ampliação de escala: Razão constante entre massa de matéria-prima e vazão de CO₂ - Rendimento igual a:
 - u.1) Para 5 min de ESC: 0,0078 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.2) Para 10 min de ESC: 0,0311 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.3) Para 15 min de ESC: 0,0491 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.4) Para 20 min de ESC: 0,0654 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.5) Para 25 min de ESC: 0,0797 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.6) Para 30 min de ESC: 0,0942 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 - u.7) Para 40 min de ESC: 0,1134 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);

- u.8) Para 100 min de ESC: 0,1664 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 u.9) Para 140 min de ESC: 0,1758 kg extrato/kg matéria-prima (b.u.);
 v) Custo de tratamento de resíduos: 0.

Os custos do processo de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda avaliando o uso de extratores de mesmo volume e configuração, porém de fornecedores diferentes e variando o tempo de ESC estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 Custos estimados do processo de ESC a 200 bar e 30 °C de resíduo de pescada-olhuda avaliando tempos de extração e diferentes fabricantes das unidades

Extrator	Tempo (min)	FRI (US\$/ano)	CMP (US\$/ano)	COP (US\$/ano)	CUT (US\$/ano)	CUM (US\$)
2 x 500 L Ameri- cana	5	607407,40	1974776,05	120200,67	963606,74	3665990,84
	10	607407,40	1165175,79	120200,67	963606,74	2856390,59
	15	607407,40	895310,66	120200,67	963606,74	2586523,84
	20	607407,40	760376,88	120200,67	963606,74	2451590,46
	25	607407,40	679415,64	120200,67	963606,74	2370630,43
	30	607407,40	625442,29	120200,67	963606,74	2316657,08
	40	607407,40	557976,21	120200,67	963696,74	2249190,4
	100	607407,40	436535,80	120200,67	963606,74	2127750,36
140	607407,40	413404,12	120200,67	963606,74	2104618,92	
2 x 500 L Chinesa	5	349259,30	1974776,04	120200,67	963606,74	3407842,7
	10	349259,30	1165178,22	120200,67	963606,74	2598242,45
	15	349259,30	895309,04	120200,67	965430,13	2328375,69
	20	349259,30	760375,66	120200,67	963606,74	2193442,32
	25	349259,30	679415,64	120200,67	963606,74	2112482,29
	30	349259,30	625442,29	120200,67	963606,74	2058508,94
	40	349259,30	557975,60	120200,67	963606,74	1991042,25
	100	349259,30	436535,56	120200,67	963606,74	1869602,22
140	349259,30	413404,12	120200,67	963606,74	1846470,78	

FRI = fração de investimento; CMP = custo de matéria-prima; COP = custo com operadores; CUT = custo de utilidades; CE = custo específico; CUM = custo de manufatura.

Conforme observa-se na Tabela 23, a unidade procedente do mercado chinês, por exigir um investimento 42,5 % menor que a unidade do mercado americano resultou em valores de fração de investimento (FRI) inferiores aos verificados para a unidade americana. Os valores de fração do investimento (FRI) independem do tempo de extração, uma vez que os mesmos estão relacionados somente com o custo de equipamento.

Como neste estudo foram avaliadas unidades de mesmo volume, não foi verificada diferença no custo com operadores (COP). Esse mesmo comportamento é observado para o custo de utilidades (CUT), visto que este depende somente do custo de cada utilidade necessária para o funcionamento do equipamento de ESC, ou seja, custo com energia para o funcionamento da bomba, com água de resfriamento, entre outros.

Ainda na Tabela 23, observa-se que o tempo de extração influencia somente o custo de matéria-prima (CMP) e conseqüentemente no custo de manufatura (CUM). No CMP, com menor tempo de ESC, maior será o número de extrações realizadas, resultando em maior consumo de matéria prima e sendo assim, mais etapas de pré-processamento (moagem e secagem) da mesma serão necessárias, além de maior consumo de CO₂ para reposição, uma vez que é considerada uma perda de 2 % de CO₂ total durante a extração por dissolução no extrato após a separação ou nas partículas da matriz.

Neste estudo foi considerado nulo o custo com o tratamento de resíduos (CTR). Esta consideração pode ser tida como sensata, baseado no princípio que o CO₂ está em reciclo com uma perda muito pequena (2 %) e que a matriz gerada pode ser utilizada para outro fim, uma vez que as empresas produtoras de óleo de peixe normalmente consideram o resíduo da extração como um subproduto destinado para a fabricação de farinha de peixe para uso animal. Neste caso, depois de extraído o óleo por prensagem a frio, o resíduo da extração (com alto teor de umidade) é submetido à secagem para produção da farinha de pescado. Entretanto, se o processo de extração supercrítica for utilizado para a obtenção do óleo, o resíduo de extração já estará seco e microbiologicamente estável (conforme discutido na seção 5.2.1).

À medida que aumenta o tempo de extração, diminui o custo da matéria-prima (CMP), sendo que este custo variou de 54 % (5 min) a 20 % (140 min) em relação ao custo de manufatura para a unidade de procedência americana e de 58 % (5 min) a 22 % (140 min) para a unidade de procedência chinesa. Sendo assim, a contribuição percentual

de cada um dos custos somado a fração de investimento depende da escolha do tempo de extração.

De acordo com a Figura 18, que apresenta o custo específico (US\$/kg de óleo) em função do tempo de extração para as duas unidades avaliadas, observa-se que os menores custos específicos são obtidos nos primeiros 40 min de extração. A partir deste tempo, o valor do custo específico aumenta significativamente, inviabilizando o processo de ESC a tempos maiores. Embora o custo com manufatura (CUM) tenha diminuído com o tempo de ESC para as duas unidades avaliadas (Tabela 23), o rendimento da ESC nos 40 primeiros minutos são os maiores, uma vez que o comportamento do rendimento nos últimos 60 min de extração é praticamente linear, correspondendo à taxa decrescente de extração. O menor custo específico é obtido aos 30 min de extração na unidade proveniente do mercado chinês, de 3,0 US\$/kg óleo.

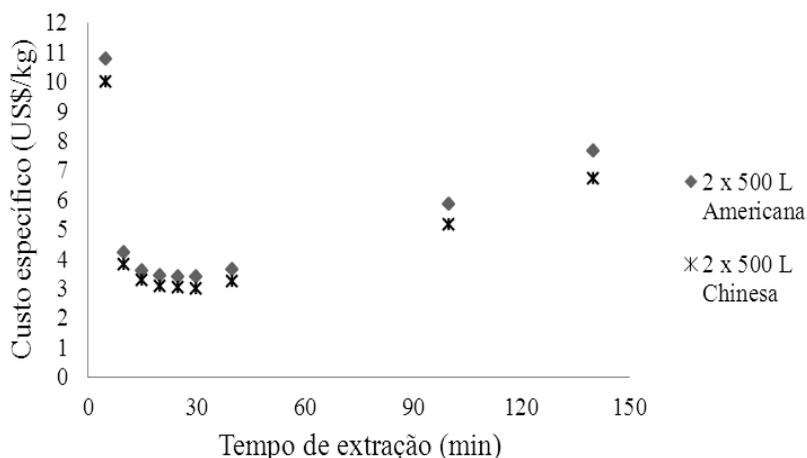


Figura 18 Custo específico do óleo de resíduo de pescada-olhuda em função do tempo de ESC à 30 °C e 200 bar e fabricante das unidades

O diagrama de porcentagem de custos estimados do processo de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda para um extrator de procedência chinesa de 2 x 500 L operando durante 30 min a 200 bar e 30 °C é dado pela Figura 19.

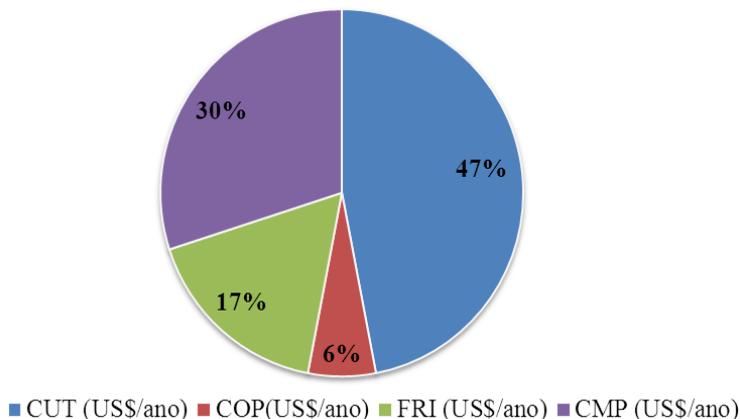


Figura 19 Diagrama de porcentagem de custos estimados do processo de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda para um extrator de procedência chinesa de 2 x 500 L operando durante 30 min a 200 bar e 30 °C

Cerca de 47 % do custo de manufatura é devido ao custo de utilidades (CUT), seguido do custo de matéria prima (CMP), responsável por 30 % e da fração do investimento (FRI) que corresponde a 17 %. O alto custo de utilidades (CUT) e de matérias primas (CMP) está relacionado à alta vazão de CO₂ empregada no processo de ESC, bom aporte de energia necessário para o funcionamento da bomba, água de resfriamento e vapor saturado, aliado a grandes quantidades de matéria prima (e conseqüentemente pré-processamento da mesma) para cada ciclo de extração. A fração de investimento (FRI) não foi a predominante dos custos de manufatura (CUM), o que indica que o crescimento da tecnologia de ESC, aliado ao maior conhecimento e tecnologia por parte dos fabricantes tem tornado os equipamentos mais acessíveis. Em termos econômicos, Perrut (2000), já havia reportado que o custo de uma planta de ESC de escala industrial com design e operação otimizados é de mesma ordem de magnitude que as plantas para processos convencionais.

A Tabela 24 apresenta o preço de mercado do óleo de peixe de diferentes países.

Tabela 24 Preço de mercado (US\$/kg) de óleo de peixe de diferentes fornecedores.

Tipo	País	Preço (US\$/kg)	Referências
Bruto	Índia	3,0 a 5,3	XUNDA, 2010; MUKKA, 2010; HONGHAO, 2010
	China	7,5 a 45,0	JANATHA, 2010, BOOM 2010; SAI, 2010
	Tailândia	4,35	T.C., 2010
Refinado	Brasil	8,34 a 10,80	ABOISSA, 2010

Fonte: Santos Jr. (2010)

O óleo extraído por ESC neste experimento deve ser considerado um óleo bruto, uma vez que resultados obtidos para os produtos de oxidação lipídica, como o índice de acidez são característicos de óleos brutos, evidenciando a necessidade de uma posterior etapa de refino para ser comercializado para consumo humano.

Conforme apresentado na Tabela 24, o preço no mercado mundial do óleo bruto de peixe está entre 3,0 US\$/kg a 45,0 US\$/kg. É evidente que estes valores variam em relação às características do óleo, como concentração de ácidos graxos ômega-3 e presença de subprodutos de oxidação, tendendo a serem maiores quanto maiores forem as concentrações de EPA e DHA. Ainda assim, o valor obtido neste estudo, de 3,0 US\$/kg é altamente competitivo no mercado internacional, sendo inferior a média de mercado.

Sendo assim, pode-se inferir que a produção de óleo de peixe a partir de resíduo de pescada-olhuda, com uma unidade de extração supercrítica constituída de dois extratores de 500 L de capacidade cada, com 30 min de operação por ciclo é economicamente viável e produz extratos com valor competitivo no mercado internacional.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho estudou o processo de secagem de resíduos de pescada-olhuda e posteriormente a obtenção de óleo de peixe a partir deste material, utilizando a extração Soxhlet e ESC.

O processo de secagem nas condições otimizadas propostas não promoveu a oxidação lipídica dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na amostra.

As condições operacionais de temperatura e pressão de ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda não exerceram influência significativa sobre o rendimento e teor de ácidos graxos ômega-3 dos extratos, indicando que a faixa de temperatura e pressão avaliadas já estavam otimizadas.

A extração Soxhlet apresentou rendimento e qualidade de extrato equivalentes aos obtidos com o uso da ESC, entretanto tem a desvantagem da utilização de solvente orgânico tóxico e necessidade de posterior etapa de remoção do solvente.

O estudo da cinética indicou que a ESC de óleo de resíduo de pescada-olhuda é limitado pela difusão e que o principal mecanismo de transferência de massa do processo é a convecção.

O critério de ampliação de escala empregado foi satisfatório, uma vez que as curvas de pequena e grande escala obtidas foram similares.

Em termos econômicos, a utilização de tecnologia supercrítica produz óleos de peixe brutos com valores altamente competitivos no mercado internacional.

O óleo obtido com ESC neste estudo é um óleo bruto, que necessita de uma etapa posterior de refino para ser destinado para o consumo humano. Uma alternativa para a purificação do óleo bruto de peixe é o fracionamento e remoção de produtos de oxidação com CO₂ supercrítico. Mais além, pode-se minimizar a utilização de antioxidantes em concentrados de ômega-3 através da micro ou nanoencapsulação com tecnologia supercrítica, que confere estabilidade aos ácidos graxos poli-insaturados. Sendo assim, a tecnologia supercrítica é uma alternativa aos métodos convencionais de extração, purificação e estabilização de lipídios e apresenta grande potencial para utilização futura em escala industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOISSA, Aboissa óleos vegetais. Disponível em <http://www.aboissa.com.br>. Acesso em 20.out.2010. Acesso em 20.out.2010.

ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafood. **Progress in Food and Nutrition Science**, v. 13, p. 161-241, 1989.

AGHEL, N.; YAMINI, Y.; HADJIAKHOONDI, A.; POURMORTAZAVI, S.M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Talanta**, v. 62, p. 407-411, 2004.

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

ALLEN, J. C., HAMILTON, R. J. **Rancidity in Foods**. London: Applied Science Publishers LTD,1983.

ALMEIDA, N. M.; FRANCO, M. R. B. Influência da dieta alimentar na composição de ácidos graxos em pescado: aspectos nutricionais e benefícios à saúde humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 7-14, 2006.

ALMEIDA, V. V.; BONAFÉ, E. G.; MUNIZ, E. C.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J. V. Optimization of the carrot leaf dehydration aiming at the preservation of omega-3 fatty acids. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1334-1337, 2009.

AMBRING, A.; JOHANSSON, M.; AXELSEN, M.; GAN, L.; STRANDVIK, B.; FRIEBERG, P. Mediterranean inspired diet lowers the ratio of serum phospholipids n-6 to n-3 fatty acids, the number of leukocytes and platelets and vascular endothelial growth factor in healthy subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 3, 575-581, 2006.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. **International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide**, Oxford: Pergamon Press, 1976.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm> Acesso em jun. 2010.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international** (16th ed.). Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1998.

AOKI, H.; AHSAN, M. D. N.; MATSUO, K.; HAGIWARA, T.; WATABE, S. Partial purification of proteases that are generated by processing of the Northern shrimp *Pandalus borealis* and which can tenderize beef. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 471–480, 2004.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods of the Microbiological Examination of Foods**, 4rd edition, Washington DC, 2001. 676p.

ASHRAE. **Thermal properties of Food**. In. ASHRAE Refrigeration Handbook, p. 1-28, 1998.

BADOLATO, E. S. G.; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MORAIS, C. Sardinhas em óleo comestível. parte II. Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p.21-26, 1994.

BELDA, M. C. R.; CAMPOS, M. A. P. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.11, p. 5-33, 1991.

BERNA, A.; TARREGA, A.; BLASCO, M.; SUBIRATS, S. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel; effect of the height of the bed. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 18, n. 3, p. 227-237, 2000.

BERSET, C.; CUVELIER M. E. Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. **Sciences des Aliments**, v. 16, n. 3, p. 219 245, 1996.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BOOM, Boom Buying. Disponível em: <http://www.boombuying.com>. Acesso em 20.out.2010.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process**, Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, 1994.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, p. 163-170, 2005.

CATCHPOLE, O. J.; GREY, J. B.; NOERMARK, K. A. Solubility of Fish Oil Components in Supercritical CO₂ and CO₂ + Ethanol Mixtures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 43, n. 6, p. 1091-1095, 1998.

CLAVIER, J-Y.; PERRUT, M. **Scale-Up Issues for Supercritical Fluid Processing in Compliance with GMP**. France: Champigneulle, 2004. 37 p.

CORDO, H. D. Estudios biológicos sobre peces costeros con datos de los campañas de investigación realizadas en 1981. La pescadilla de red (*Cynoscion striatus*). **Publicaciones de la Comisión. Técnica Mixta del Frente Marítimo**, v. 1, p. 15-27. 1986.

CPFL, Companhia Paulista de Força e Luz. Disponível em: <http://www.cpfl.com.br>. Acesso em out.2008.

DANIELSKI, L.; MICHIELIN, E. M. Z.; FERREIRA, S. R. S. Horsetail (*Equisetum giganteum L.*) oleoresin and supercritical CO₂: Experimental solubility and empirical data correlation. **Journal of Food Engineering**, v.78, p. 1054-1059, 2007.

DEL VALLE, J. M.; RIVERA, O.; MATTEA, M.; RUETCH, L.; DAGHERO, J.; FLORES, A. Supercritical CO₂ processing of pretreated rosehip seeds: effect of process scale on oil extraction kinetics. **Journal of Supercritical Fluids**, v.31, p.159-174, 2004.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J.C. Supercritical CO₂ Extraction and Purification of Compounds with Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2441-2469, 2006.

DUNFORD, N. T.; GOTO, M.; TEMELLI, F. Modelling of oil extraction with supercritical CO₂ from Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) at different moisture contents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 13, n. 1, p. 1-3, 303-309, 1998.

DUNFORD, N. T.; TEMELLI, F.; LEBLANC, E. Supercritical CO₂ extraction of oil and residual proteins from Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) as affected by moisture content. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 2, p. 289-294, 1997.

EATON S. B.; KONNER M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. **The New England Journal of Medicine**, v. 312, n. 5, p. 283-289, 1985.

ERVIK, A.; HANSEN, P. K.; AURE, J.; STIGEBRANDT, A.; JOHANNESSEN, P.; JAHNSEN, T. Regulating the local environmental impact of intensive marine fish farming I. The concept of the MOM system (Modelling–Ongrowing fish farms–Monitoring). **Aquaculture**, v. 158, n. 1-2, p. 85-94, 1997.

ESQUÍVEL, M. M.; BANDARRA, N. M.; FONTAN, I.; BERNARDO-GIL, M. G.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; EMPIS, J. A. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Sardine *Sardina pilchardus* Oil. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 30, n. 7, p. 715-720, 1997.

EYMARD, S. **Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipids au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*): choix des procédés**. 2003. 143 pp. Thèse de l'Université de Nantes, France, N° ED 0367-089, 2003.

EYMARD, S.; CARCOUËT, E.; ROCHET, M-J.; DUMAY, J.; CHOPIN, C.; GENOT, C. Development of lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1750-1756, 2005.

FAO, F. I. D. **The production of fish meal and oil.** F. F. T. Paper: Rome (Italy), 142, 63, 1986.

FAO. Fisheries and Aquaculture Department. Species Fact Sheets, *Cynoscion striatus*. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/species/2349/en>. Acesso em 28.dez.2010.

FAOSTAT, FAO STATISTICAL DATABASES, FISHERIES DATA, 2001. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome. Disponível em: <<http://www.fao.org><http://www.fao.org/>>. Acesso em 17.set.2009.

FERNÁNDEZ-SANJUAN, P. M. Fatty acid composition of commercial Spanish fast food and snack food. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 3, p. 275-281, 2000.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, n. 3, p. 235-245, 1999.

FRANÇA, L. F.; REBER, G.; MEIRELES, M. A. A.; MACHADO, N. T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti, a fruit from Amazon region. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, n. 3, p 247-256, 1999.

GOMIDE, R. **Operações com sistemas sólidos granulares.** v. 1, São Paulo: Catalogação na Publicação Câmara Brasileira do Livro, 1983.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; BOATELLA, J.; BARROETA, A.; CODONY, R. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivated spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1155-1159, 2000.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. I. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 1-2, p.7-20, 1995.

HAMMAM, H.; SODERBERG, I.; SIVIK, B. Physical properties of butter oil fractions obtained by supercritical carbon dioxide extraction. **Fat Science and Technology**, v. 10, p. 374-37, 1991.

HANSEN, P. K.; ERVIK, A.; SCHAANING, M.; JOHANNESSEN, P.; AURE, J.; JAHNSEN, T.; STIGEBRANDT, A. Regulating the local environmental impact of intensive marine fish farming II. The monitoring programme of the MOM system (Modelling–Ongrowing fish farms–Monitoring). **Aquaculture**, v. 194, n.1-2, p. 75-92, 2001.

HARDARDOTTIR, F; KINSELLA, J. E. Extraction of Lipid and Cholesterol from Fish Muscle with Supercritical Fluids. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 6, p. 1656-1658, 1988.

HART, F. L.; FISHER, H. J. **Análisis moderno de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1971.

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

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.

HONGHAO, Shangai Honghao Chemicals Co., Ltd. Disponível em <http://www.eonwin.com>. Acesso em 20.out.2010.

HORNSTRA, G. Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, p. 379-389, 2001.

HOYLAND, D. V.; TAYLOR, A. J. A Review of the methodology of the 2 thiobarbituric acid test. **Food Chemistry**, v. 40, p. 271-291, 1991.

IGENE, J. O; YAMAUCHI, K.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. I.; AUST, S. D. Evaluation of 2-thiobarbituric acid reactive substances in relation to warmed over flavour development in cooked chicken. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 33, n. 3, p. 364-367, 1985.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Edição IV, Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

IWAMA, G. K. Interactions between aquaculture and the environment. **Critical Reviews Environmental Conservation**, v. 21, n. 2, p. 177-216, 1991.

JANATHA, Fish Meal & Oil Products. Disponível em <http://www.janathafishmeal.com>.

JARDINE, D.; ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) investigation of the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) reaction. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1720-1724, 2002.

JENSEN, C.; LAURIDSEN, C.; BERTELSEN, G. Dietary Vitamin E: Quality and Storage Stability of Pork and Poultry. **Trends in Food Science and technology**, v. 9, n. 2, p. 62-72, 1998

JOCHMANN, A. **Extração Supercrítica de oleoresina de calêndula (Calendula officinalis)**. 2000. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters - Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 488-506, 1992.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, n. 7, p. 671-701, 1996.

KAMEI, M.; KI, M.; KAWAGOSHI, M.; KAWAI, N. Nutritional evaluation of Japanese take-out lunches compared with Western-style fast foods supplied in Japan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 35-45, 2002.

KATO, S.; KUNISAWA, N.; KOJIMA, T.; MURAKAMI, S. Evaluation of ozone treated fish waste oil as a fuel for transportation. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 37, n.7, p. 863-870, 2004.

KOLANOWSKI, W.; SWIDERSKI, F.; BERGER, S. Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 AGPI. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 39-49, 1999.

KOTZAMANIS, Y. P.; ALEXIS, M. N.; ANDRIOPOULOU, A.; CASTRITSI-CATHARIOU, I.; FOTIS, G. Utilisation of waste material resulting from trout processing in gilthead bream (*Sparus aurata* L.) diets. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 288-295, 2001.

KUMAR, H. S.; SUNIL, R.; VENUGOPAL, M. N.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection of Salmonella spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 91-95, 2003.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid Oxidation in Muscle Foods: A Review. **Food Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 295-314, 1990.

LEITÃO, M. F. de F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: Simpósio sobre controle de qualidade microbiológico, químico, físico e organoléptico de pescado e derivado, 1994, Campinas. **Anais... Campinas: ITAL**, 1994. p.11- 26.

LÉTISSE, M.; ROZIÈRES, M.; HIOL, A.; SERGENT, M.; COMEAU, L. Enrichment of EPA and DHA from sardine by supercritical fluid extraction without organic modifier I. Optimization of extraction conditions. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n.1, p. 27-36, 2006.

LUPATSCH, I.; KATZ, T.; ANGEL, D. L. Assessment of the removal efficiency of fish farm effluents by grey mullets: a nutritional approach. **Aquaculture and Research**, v. 34, p. 1367-1377, 2003.

LUZIA, L. A.; SAMPAIO, G.R.; CASTELLUCCI, C. M. N.; TORRES, E. A. F. S. The influence of season on the lipid profile of five commercially important species of brazilian fish. **Food Chemistry**, v. 83, n.1, p. 93-97, 2003.

MAIA, E. L.; RODRIGUES-AMAYA, D. Avaliação de um método simples e econômico para metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27-35, 1993.

MARRONE, C.; POLETTO, M.; REVERCHON, E.; STASSI, A. Almond oil extraction by supercritical CO₂: experiments and modeling. **Chemical Engineering Science**, v. 53, n. 21, p. 3711-3718, 1998.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MARTÍNEZ, J. **Extração de Óleos Voláteis e Outros Compostos com CO₂ Supercrítico: Desenvolvimento de uma Metodologia de Aumento de Escala a partir da Modelagem Matemática do Processo e Avaliação dos Extratos Obtidos**. 2005. 190 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent Model To Describe Extraction of Ginger Oleoresin with Supercritical Carbon Dioxide. **Industrial Engineering and Chemistry Research**, v. 42, n. 5, p.1057-1063, 2003.

MEIRELES, M.A.A. Supercritical Extraction from Solid: Process Design Data (2001-2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**. v. 7, p. 321-330, 2003.

MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

MELTON, S. L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technology**, v.37, p.105-116, 1983.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3)**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1980. 96p.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e de parâmetros para ampliação de escala**. 2008. 152p. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

MOHAMED, R. S.; MANSOORI, G. A. The use of supercritical fluid extraction technology in food processing. Featured article – Food technology magazine. **The World Markets Research Centre**, London, UK, 2002.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 6 ed, USA: Wiley, 2005. 660p.

MUELLER, B. A.; TALBERT, R. L. Biological mechanisms and cardiovascular effects of omega-3 fatty acids. **Clinical Pharmacy**, v. 7, n. 11, p. 795-807, 1988.

MUKKA, Sea Food Industries. Disponível em <http://www.mukkaseafoods.com>. Acesso em 20.out.2010.

NAGAI, T.; SUZUKI, N. Isolation of collagen from fish waste material – skin, bone and fin. **Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 277-281, 2000.

NEI NEI, H. Z.; FATEMI, S.; MEHRNIA, M. R.; SALIMI, A. Mathematical modeling and study of mass transfer parameters in supercritical fluid extraction of fatty acids from *Trout* powder. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, n. 1, p. 72-78, 2008.

NETTLETON, J. A. **Omega-3 fatty acids and health**. New York: Chapman & Hall. 1995. 357p.

NION, H. **Evaluación y perspectivas Del complejo pesquero uruguayo. 2. Análisis de la investigación biológicopesquera en el Uruguay**. Montevideo: CIEDUR, 1985. 162p.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M., LAMPART-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p.227- 235, 2005.

NORULAINI, N. A. N.; SETIANTO, W. B.; ZAIDUL, I. S. M.; NAWI, A. H.; AZIZI, C. Y. M.; MOHD OMAR, A. K. Effects of supercritical carbon dioxide extraction parameters on virgin coconut oil yield and medium-chain triglyceride content. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 193-197, 2009.

OETTERER, M. Técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce. **Panorama da Aqüicultura**, v. 8, n. 46, p. 14-20, 1998.

ÖZDEN, Ö. To get unsaturated fatty acids extract from fish, with the method of supercritical fluid extraction. In: **Congress proceedings. Lipids, fat and oil: opportunities and responsibilities in the new century**, 2000, Wurzburg, Germany. Wurzburg 2000.

OSAWA, C. C.; FELICIO, P. E.; GONCALVES, L. Ap. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n.4, p. 655-663, 2005.

PELZER, K. D. Salmonellosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 4, p. 456-463, 1989.

PEREIRA, C. G.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Extraction and isolation of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* A.DC: Technical and economical analysis. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 40, p. 232-238, 2007.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4531-4535, 2000.

PESSATI, M. L. Inventário da geração de resíduos de pescados em Santa Catarina e potenciais aplicações. In: BIOLATINA 2004 & ABRABI 2004, 2004, Salvador. Anais do **BIOLATINA 2004 & ABRABI 2004**, Salvador, 2004.

PESSATTI, M. L. **Aproveitamento dos subprodutos do pescado**. Meta 11. Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aqüicultura no Sul do Brasil, Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Universidade do Vale do Itajaí, MA/SARC, n. 003/2000, 2001.

POWELL, M. J. D. **Subroutine BOBYQA**. Department of Applied Mathematics and Theoretical Physics, Cambridge University, 2009.

PRADO, I. M. **Uso de simulador no estudo de aumento de escala e viabilidade econômica do processo de extração supercrítica de produtos naturais**. 2009. 140 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

QUISPE-CONDORI, S.; S´ANCHEZ, D.; FOGGIO, M. A.; ROSA, P. T. V.; ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M. A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluid**, v. 36, n. 1, p. 40-48, 2005.

QUITAIN, A.T., SATO, N., DAIMON, H. AND FUJIE, K. Production of valuable materials by hydrothermal treatment of shrimp shells. **Industrial Engineering Chemistry Research**, v. 40, n. 25, p. 5885–5888, 2001.

REGULSKA-ILOW, B.; ILOW, R. Comparison of the effect of the microwave cooking and conventional cooking methods on the composition of fatty acids and fat quality indicators in herring. **Nahrung /Food**, v. 46, p. 383–388, 2002.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n. 2, p. 146-166, 2006.

RIBEIRO, E. T. **Emprego de técnicas de extração a alta e baixa pressão para obtenção de polifenóis antioxidantes do subproduto agroindustrial de maçã**. 2007. 133 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

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

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; DE DIEGO, S. M.; SANZ, M. T.; CARBALLIDO, J. R. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 1-12, 2009a.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; DE-DIEGO, S.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; SANZ, M.T.; ROVIRA, J. SFE of fish oil from fish by-products: a comparison with other production processes. In: **9th International Symposium on SuperCritical Fluids 2009. New trends on supercritical fluids: Energy, Materials, Processing**, Arcachon (France), 2009b. p. 18-20.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; DIEGO, S. M.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; SANZ, M. T.; ROVIRA, J. Supercritical fluid extraction of the ômega-3 rich oil contained in hake (*Merluccius capensis*–*Merluccius paradoxus*) by-products: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 2, p. 215-226, 2008.

SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; JAHURUL, M. H. A.; KHATIB, A.; NORULAINI, N. A. N. Extraction of fish oil from the skin of Indian mackerel using supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, v. 99, p. 63–69, 2010a.

SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; YAZID, A. M.; KHATIB, A.; NORULAINI, N. A. N. Fatty acid compositions of fish oil extracted from different parts of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) using various techniques of supercritical CO₂ extraction. **Food Chemistry**, v. 120, n. 3, p. 879–885, 2010b.

SAI, Sai Petrochemicals Pvt. Ltd. Disponível em <http://www.svlele.com/saipetro>. Acesso em 20.out.2010.

SANTOS Jr, L. C. O. **Obtenção de ácidos graxos poliinsaturados a partir de resíduos de sardinha do litoral catarinense**. Florianópolis, 2010. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

SCHMIDT, M. A. **Gorduras inteligentes**. São Paulo – SP: Editora Roca LTDA, 2000. 231p.

SHABARINATH, S.; KUMAR, H. S.; KHUSHIRAMANI, R.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection and characterization of Salmonella associated with tropical seafood. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, p. 227–233, 2007.

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Bacharis trimera* Less)**. Florianópolis, 2004. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. Dossier: Polyunsaturated fatty acids in biology and diseases: The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365-379, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 9, p. 502-507, 2006.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, n. 3, p. 438-463, 1991.

SOUSA, E. M. B. D.; MARTÍNEZ, J.; CHIAVONE-FILHO, O.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of volatile oil from *Croton zehntneri* Pax et Hoff with pressurized CO₂: solubility, composition and kinetics. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 3, p. 325-333, 2005.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ – I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**. v. 49, n. 3, p. 409-414, 1994.

STANSBY, M. E. Polyunsaturates and fat in fish flesh. **Journal American Dietetic Association**, v. 63, p. 625-30, 1973.

STEVANATO, F. B.; COTTICA, S. M.; PETENUCCI, M. E.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Evaluation of processing, preservation and chemical and fatty acid composition of Nile tilapia waste. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 34, p. 373-383, 2010.

STORI, F. T.; BONILHA, L. E. C.; PESSATTI, M. L. Proposta de aproveitamento dos resíduos das indústrias de beneficiamento de pescado de Santa Catarina com base num sistema gerencial de bolsa de resíduos. In: Social, Inst. Ethos de Empresas e Resp. Econômico, **Jornal Valor**. Responsabilidade social das empresas. São Paulo, 373-406, p. 390-397, 2002.

T.C. UNION AGROTECH CO., LTDA. Disponível em <http://www.tunion.thailand.com>. Acesso em 20.out.2010.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP - Versão II. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 105p.

TEMELLI, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 583-590, 2009.

TEMELLI, F.; LeBLANC, E.; FU, L. Supercritical CO₂ Extraction of Oil from Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) and Protein Functionality. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 4, p. 703-706, 1995.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**, v. 812, n. 1-2, p. 85-99, 2004.

TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, synthesis, and design of chemical process.** PTR Upper Saddle River: Prentice Hall, 1998.

TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, Synthesis and Design of Chemical Processes.** 2nd Ed. Prentice Hall, New Jersey, EUA, 2003, pp.977.

UNDELAND, I.; STADING, M.; LINGNERT, H. Influence of skinning on lipid oxidation in different horizontal layers of herring (*Clupea harengus*) during frozen storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 78, n. 3, p. 441-450, 1998.

VASAPOLLO, G.; LONGO, L.; RESTIO, L.; CIURLIA, L. Innovative supercritical CO₂ extraction of Lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 29, n. 1-2, p. 87-96, 2004.

VASCONCELLOS, Claudia Mônica Cabral. **Extração Supercrítica dos Óleos Voláteis de *Achyrocline satureioides* (Macela) e *Vetiveria zizanioides* (Vetiver): Determinação da Cinética de Extração e Estimativa de Custos de Manufatura.** 2007. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

VIANNA, J. F.; PIRES, D. X.; VIANA, L. H. Processo químico industrial de extração de óleo vegetal: um experimento de química geral. **Química Nova**, v.22, n.5, p. 765-768, 1999.

VIEIRA, P. C.; HAIMOVICI, M. Idade e crescimento da pescada-olhuda *Cynoscion striatus* (Pisces, Scianidae) no sul do Brasil. **Atlântica**, v. 15, p. 73-91, 1993.

VISENTAINER, J. V.; NOFFS, M. A.; CARVALHO, P. O.; ALMEIDA, V. V.; OLIVEIRA, C. C.; SOUZA, N. E. Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the Southeast coast of Brazil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, n. 6, p. 543-547, 2007.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fett Seifen, Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.

WEINHOLD, T. S.; BRESCIANI, L. F. V.; TRIDAPALLI, C. W.; YUNES, R. A.; HENSE, H.; FERREIRA, S. R. S. Polygala cyparissias oleoresin: comparing CO₂ and classical organic solvent extractions. **Chemical Engineering and Processing**, v. 47, p. 109-117, 2008.

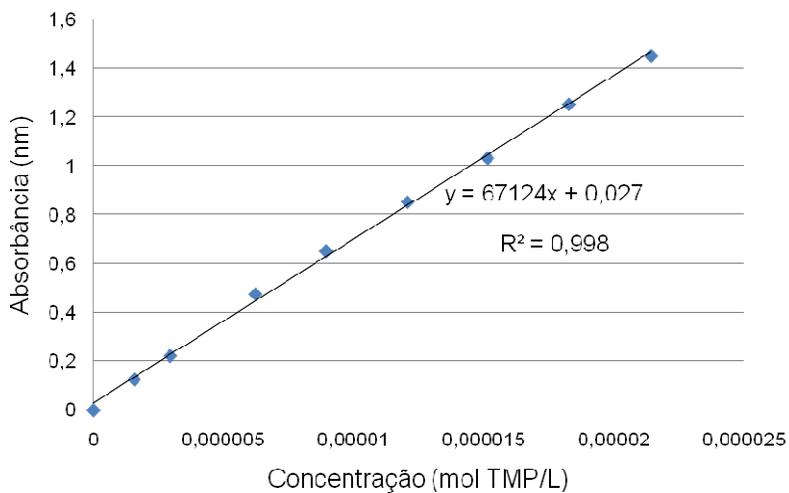
WHO/FAO. Fats and oils in human nutrition. FAO, 1994.

WISNIEWSKI JR. A.; WIGGERS, V. R.; SIMIONATTO, E. L.; MEIER, H. F.; BARROS, A. A. C.; MADUREIRA, L. A. S. Biofuels from waste fish oil pyrolysis: Chemical composition. **Fuel**, v. 89, n. 3, p. 563-568, 2010.

XUNDA, Wuxi Xunda Marine Biological Products Co., Ltd. Disponível em <http://www.xdchem.com>. Acesso em 20.out.2010.

APÊNDICES

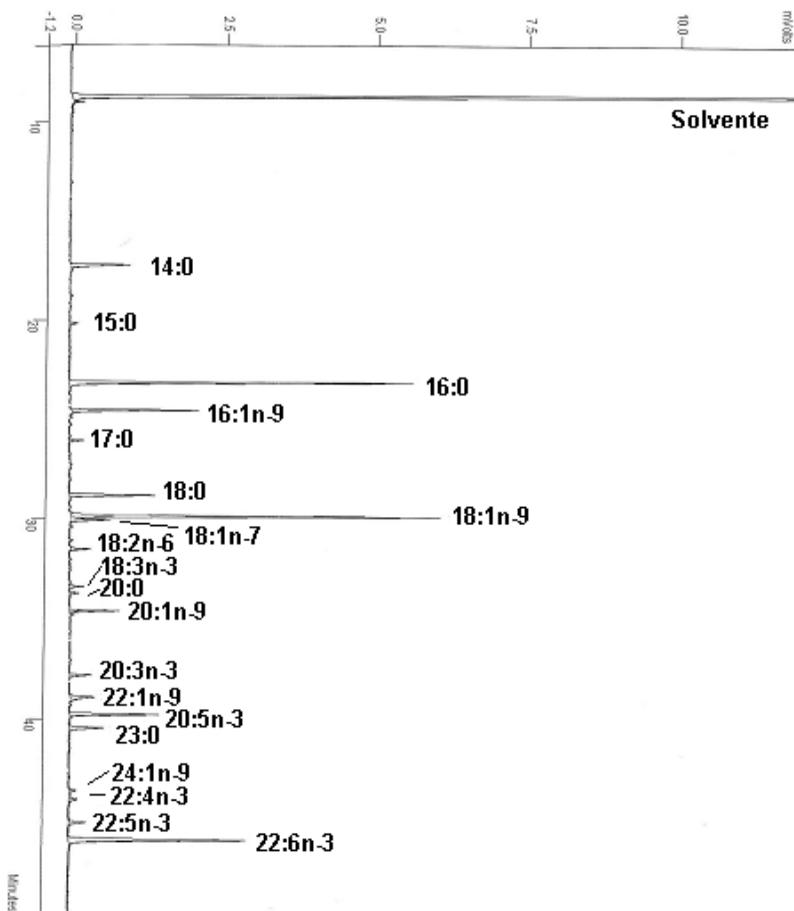
Apêndice I – Curva padrão de malonaldeído



Curva padrão de 1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) utilizada na determinação da concentração de malonaldeído

Apêndice II – Cromatogramas e compostos identificados em diferentes amostras e extratos

AI 1 Cromatograma com perfil de ácidos graxos da amostra APP-L1



Apêndice III – Resultados experimentais das curvas de ESC do óleo de resíduo de pescada-olhuda

Tabela I Massas de óleo (g) em função do tempo de ESC das curvas obtidas com diferentes vazões de CO₂ (Q_{CO2}) a pressão de 200 bar, temperatura de 30 °C e tempo de extração de 150 min.

Q _{CO2} (g/min)	3,616		9,04		18,08
Replicata	1	2	1	2	1
Tempo	Massa de óleo (g)				
0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
5	0,0907	0,0988	0,2177	0,2101	
10	0,1663	0,2045	0,4088	0,4178	0,0311
15	0,2374	0,2873	0,5589	0,5970	0,0491
20		0,3939	0,6683	0,7104	0,0654
24	0,3571				
25	0,3748	0,4735	0,7595	0,7819	0,0797
30	0,4299	0,5513	0,8013	0,8206	0,0942
40	0,5413	0,6808	0,8880	0,8624	0,1134
50	0,6258	0,7736	0,9427	0,8916	0,1287
60	0,6911	0,8504	0,9635	0,9325	0,1414
80	0,8033	0,9254	0,9987	0,9601	0,1558
100	0,8682	0,9574	1,0143	0,9901	0,1664
120	0,9040	0,9864	1,0410	1,0207	0,1718
140	0,9290		1,0592		0,1758