



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

**EMPREGO DA TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA PARA A
VALORIZAÇÃO DO RESÍDUO DE SEMENTE DE CHIA (*Salvia
hispanica*)**

CAMILA GUINDANI

**FLORIANÓPOLIS - SC
2014**

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

Camila Guindani

**EMPREGO DA TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA PARA A
VALORIZAÇÃO DO RESÍDUO DE SEMENTE DE CHIA (*Salvia
hispanica*)**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de mestre em Engenharia de alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira

Coorientadora: Dra. Natália Mezzomo

Florianópolis - SC
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Guindani, Camila

Emprego da Tecnologia Supercrítica para a Valorização do Resíduo de Semente de Chia (*salvia hispanica*) / Camila Guindani; orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira / coorientadora, Natália Mezzomo – Florianópolis, SC; 2014.

156 pg.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. Extração supercrítica sequencial. 3. atividade antioxidante. 4. Ácidos graxos essenciais. 5. Torta de chia. Ferreira, Sandra Regina Salvador. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

**“EMPREGO DA TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA
PARA A VALORIZAÇÃO DO RESÍDUO DE
SEMENTE DE CHIA (*Salvia hispanica*)”**

Por

Camila Guindani

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



Prof.a. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Orientadora

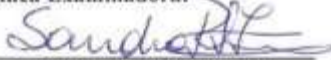


Dra. Natália Mezzomo
Coorientadora



Prof. Dr. Marco Di Luccio
Coordenador

Banca Examinadora:



Prof.a. Dra. Sandra Regina
Salvador Ferreira



Prof./Dr. Márcio José Rossi



Prof.a. Dra. Jane Mara Block



Prof. Dr. Marcelo Lanza

Florianópolis, 24 de setembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças e me iluminado durante todo o caminho. Aos meus pais Kátia e Ivo, por todo o amor, força e incentivo dados a mim durante toda a vida.

Ao meu irmão Igor pela amizade, convivência, parceria e pelos momentos divertidos que tornaram esta caminhada mais leve.

Ao meu namorado Graziâni Candioto, por todo o amor, atenção, pelas palavras de incentivo em momentos difíceis, e pelas comemorações a cada pequena conquista.

À minha orientadora Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira, pela orientação, paciência, dedicação, incentivo e pela confiança depositada em mim para a realização deste trabalho.

À minha coorientadora Dra. Natália Mezzomo, pela orientação, paciência, incentivo e por todo o auxílio e atenção prestados no decorrer deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Márcio José Rossi, por gentilmente disponibilizar espaço e material para a realização das análises antimicrobianas, além de toda a atenção dedicada.

À Profa. Dra. Jane Mara Block, por gentilmente disponibilizar seu laboratório e sua equipe de trabalho para a realização de ensaios cromatográficos.

À colega do Laboratório de Óleos e Gorduras Rossana Podestá pela atenção e disposição na realização dos ensaios cromatográficos.

Ao Prof. Dr. Marcelo Lanza por cuidar da manutenção do Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, pelos importantes ensinamentos à minha formação profissional.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À Pазze Alimentos pelo fornecimento da matéria-prima que possibilitou a realização deste trabalho.

Aos colegas do LATESC pela convivência, amizade e experiências, agradecendo em especial a Patrícia, Ana Augusta e Josamaique por estarem sempre dispostos a auxiliar na solução de problemas, e à Simone, Kátia, Evertan e Gláucia pela parceria, sábios conselhos, auxílio em experimentos e pelo chimarrão e boas conversas.

Às alunas de graduação e intercâmbio Karina e Jade, pela amizade e apoio prestado na realização de análises.

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

RESUMO

A chia (*Salvia hispanica*) é uma planta cultivada nas Américas do Sul e Central, cuja semente é fonte de antioxidantes naturais e ácidos graxos essenciais. O presente estudo avaliou a obtenção de extratos de torta de chia, subproduto proveniente da extração do óleo de chia. Foram aplicadas as técnicas a baixa pressão como extração em Soxhlet (SOX), ultrassom (US) e maceração (MAC) utilizando etanol (EtOH), hexano (Hex) e acetato de etila (EtOAc) como solventes, a fim de comparar com o processo de extração supercrítica (ESC). As operações de ESC foram realizadas com pressões de 150 bar a 300 bar e temperaturas de 40 °C e 50 °C empregando o CO₂ como solvente. Também foi realizada a aplicação de EtOH e EtOAc como cossolventes no processo de ESC em concentrações de 2,5 até 7,5 %. O processo de extração supercrítica sequencial (ESC-S) foi estudado, o qual possui duas etapas de extração, com uma despressurização rápida do sistema entre a primeira e a segunda etapa. A construção da curva cinética e modelagem matemática de processos de ESC e ESC-S foram executadas, além da estimativa de custos de manufatura da instalação de uma unidade industrial de ESC. Todos os extratos obtidos foram submetidos a análises de atividade antioxidante (método ABTS), teor de fenólicos totais (TFT), perfil de ácidos graxos e atividade antimicrobiana. Nas extrações a baixa pressão, os maiores rendimentos foram obtidos utilizando SOX com EtOH (15,4 ± 0,4 %). Nas ESC com CO₂ puro, a pressão de 300 bar permitiu alcançar rendimentos de até 10,6 ± 0,2 %, na maior temperatura estudada. A utilização de cossolvente causou aumento no rendimento de extração (11,3 ± 0,1% utilizando EtOH a 7,5%). Os extratos obtidos em extrações a baixa pressão com EtOH e EtOAc obtiveram os melhores valores de TFT e atividade antioxidante. A utilização de cossolvente afetou positivamente os resultados de TFT e atividade antioxidante dos extratos de ESC. O perfil de ácidos graxos dos extratos confirmou altos teores de ácido linoleico e α -linolênico em todos os extratos testados. Extratos obtidos pelas diferentes técnicas mostraram atividade antimicrobiana contra *B. cereus*. A ESC-S com despressurização rápida teve efeito positivo com relação ao rendimento, onde foi atingido rendimento de 8,7 ± 0,2%, estatisticamente igual ao rendimento obtido em ESC na mesma condição, porém reduzindo o tempo de extração pela metade. A realização da segunda etapa de ESC-S utilizando EtOH 7,5% ocasionou um aumento no TFT dos extratos obtidos. O modelo que melhor se ajustou as curvas experimentais foi o modelo de Martínez et al. (2003). Segundo o modelo de Sovová (1994), para os processos de

ESC e primeira etapa de ESC-S, o mecanismo de convecção foi mais representativo. Na segunda etapa de ESC-S o mecanismo de difusão também mostrou representatividade. A ESC-S quando realizada até a etapa de despressurização (ESC-Desp) mostrou ser um processo economicamente viável e lucrativo para aplicação em escala industrial, com valores de extrato competitivos com os valores de mercado, gerando extratos de alta qualidade em um menor tempo de processo.

Palavras-chave: Extração supercrítica sequencial, atividade antioxidante, ácidos graxos essenciais, torta de chia.

ABSTRACT

Chia (*Salvia hispanica*) is a plant cultivated in South and Central America, whose the seed is a source of natural antioxidants and essential fatty acids. The present study evaluated the extracts attainment from chia seed cake, which is a byproduct from chia seed oil extraction process. It were applied low-pressure techniques, like Soxhlet extraction (SOX), ultrasound assisted extraction (US) and maceration (MAC) using ethanol (EtOH), hexane (Hex) and ethyl acetate (EtOAc) and as solvents with the objective of comparing with the high pressure process, performed by supercritical fluid extraction (SFE). SFE were performed at pressures from 150 to 300 bar and temperatures of 40 °C and 50 °C, using CO₂ as solvent. It was also performed an application of EtOH and EtOAc as cosolvents on SFE process, using concentrations from 2.5 to 7.5%. A sequential supercritical fluid extraction (S-SFE) process was studied, wich includes two steps of extraction, with a fast depressurization of the system between the first and the second step of extraction. The kinetic extraction curves of SFE and S-SFE processes were built and mathematical models adjusted the experimental data. It were also performed an estimative of manufacturing costs from installing a supercritical fluid extraction industrial unit. All extracts was submitted to antioxidant analysis (ABTS method), total phenolics content (TPC), fatty acids profile and antimicrobial analysis. Among low-pressure extraction, the highest yield was achieved using SOX with EtOH (15.4 ± 0.4 %). Among the SFE assays using pure CO₂, the pressure of 300 bar allowed to achieve yields up to 10.6 ± 0.2 %, in the highest tested temperature. The use of a cosolvent caused increase in yield (11.3 ± 0.1 % using EtOH 7,5%). Extracts obtained by low-pressure techniques using EtOH and EtOAc showed the best values of TPC and antioxidant activity. The using of a cosolvent affected in a positive way the results of TPC and antioxidant activity of SFE extracts. The fatty acids profile of the extracts confirmed the high content of linoleic and α -linolenic acids in all tested extracts. Extracts obtained by different techniques showed antimicrobial activity against *B. cereus*. S-SFE process with fast depressurization caused a positive effect in yield, achieving a yield of 8.7 ± 0.2 %, statically equal to the yield obtained by SFE using the same condition, but reducing the extraction time by half. The performance of the S-SFE second step using EtOH 7.5% caused an increase in the TPC of the obtained extracts. Martínez et al (2003) was the model which best-adjusted experimental data. According to Sovová's model (1994), in S-SFE first step and SFE processes, the

convection mechanism was more representative. In the S-SFE second step, the diffusion mechanism showed to be representative. S-SFE process, when realized until the depressurization step (SFE-Desp), showed to be an economically viable and profitable process on an industrial scale application, with values of extract competitive with market values, generating high quality extracts in a shorter process time.

Keywords: Sequential supercritical fluid extraction, antioxidant activity, essential fatty acids, chia seed cake.

“Ciência é muito mais uma maneira de pensar
do que um corpo de conhecimento.”

Carl Sagan

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Perfil de ácidos graxos da chia.....	31
Tabela 2: Plano de ensaios de extração supercrítica para a determinação do rendimento global (X_0).....	56
Tabela 3: Caracterização do leito de partículas (torta de chia) de extração supercrítica.....	69
Tabela 4: Parâmetros cinéticos da curva de extração supercrítica a 200 bar e 50 °C, utilizados na modelagem matemática da curva.....	70
Tabela 5: Parâmetros cinéticos da curva de extração supercrítica a 150 bar e 40 °C, utilizados na modelagem matemática da curva.....	72
Tabela 6: Rendimentos de extração de torta de chia e densidade do solvente supercrítico em função das condições de temperatura e pressão aplicadas.....	74
Tabela 7: Rendimentos obtidos com o emprego de cossolvente na extração supercrítica de torta de chia.....	77
Tabela 8: Teor de compostos fenólicos totais (TFT), expressos em equivalentes de ácido clorogênico (EAC), para os extratos de torta de chia obtidos a baixa pressão e por extração supercrítica (ESC).....	80
Tabela 9: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de torta de chia.....	84
Tabela 10: Perfil de ácidos graxos de extratos de torta de chia obtidos através de extrações a baixa pressão e ESC.....	87
Tabela 11: Concentração mínima inibitória dos extratos obtidos em técnicas a baixa pressão e em ESC contra <i>B. cereus</i> e <i>E.coli</i>	91
Tabela 12: Parâmetros cinéticos da primeira etapa da extração supercrítica sequencial (150 bar e 40 °C), utilizados na modelagem matemática da curva.....	94
Tabela 13: Parâmetros cinéticos da segunda etapa da extração supercrítica sequencial (200 bar e 40 °C), utilizados na modelagem matemática da curva.....	96
Tabela 14: Rendimentos obtidos no processo ESC-S de torta de chia nas diferentes etapas.....	96
Tabela 15: Perfil de ácidos graxos de extratos de torta de chia obtidos através de ESC-S.....	103
Tabela 16: Concentração mínima inibitória dos extratos obtidos ESC-S contra <i>B. cereus</i> e <i>E.coli</i>	104
Tabela 17: Parâmetros de modelagem obtidos pela aplicação dos modelos matemáticos para as curvas de extração supercrítica de torta de chia.....	106

Tabela 18: Parâmetros de modelagem obtidos pela aplicação dos modelos matemáticos para as curvas de extração supercrítica sequencial de torta de chia.....	111
Tabela 19: Custos de processo para cada condição de extração supercrítica de torta de chia avaliada.....	117
Tabela 20: Massa de extrato obtida em um ano de produção e custo específico do extrato para cada condição de extração supercrítica de torta de chia avaliada.....	119
Tabela 21: Valores de mercado para óleo de chia comercial.....	121
Tabela 22: Dados experimentais das curvas cinéticas de ESC.....	147
Tabela 23: Dados experimentais da curva cinética de ESC-S.....	148

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas dos Ômega 6 (a) e Ômega 3 (b).....	30
Figura 2: Diagrama pressão-temperatura para um componente puro...	40
Figura 3: Representação das três etapas da extração de uma curva de ESC.....	44
Figura 4: Torta de semente de chia.....	49
Figura 5: Extração de torta de chia em Soxhlet.....	54
Figura 6: Curva cinética de extração supercrítica de torta de chia a 200 bar e 50 °C.....	70
Figura 7: Curva cinética de extração supercrítica de torta de chia a 150 bar e 40 °C.....	71
Figura 8: Isotermas de extração supercrítica da torta de chia em função da pressão de operação.....	76
Figura 9: Rendimentos de extração utilizando etanol e acetato de etila como cossolventes na extração supercrítica de torta de chia.....	78
Figura 10: Placa de teste apresentando presença de halos de inibição para solução de antibiótico cloranfenicol.....	89
Figura 11: Placa de teste apresentando ausência de halos de inibição para soluções de DMSO até 60 %.....	90
Figura 12: Curva cinética de ESC-S de torta de chia, sendo: • = primeira etapa a 150 bar e 40 °C; ♦ = segunda etapa, após depressurização rápida, a 200 bar e 40 °C.....	93
Figura 13: Curva cinética de primeira etapa da extração supercrítica sequencial da torta de chia.....	94
Figura 14: Curva cinética de segunda etapa da extração supercrítica sequencial da torta de chia.....	95
Figura 15: Rendimentos obtidos nas diferentes etapas do processo extração supercrítica sequencial e na extração supercrítica em etapa única da torta de chia.....	97
Figura 16: Consumo de CO ₂ em função da massa de extrato obtida para ESC-S de torta de chia.....	98
Figura 17: Consumo de CO ₂ em função da massa de extrato obtida para ESC de torta de chia a 150 bar e 40 °C.....	98
Figura 18: Ilustração dos extratos obtidos nas diferentes etapas de extração sequencial de torta de chia: (a) 1ª etapa (150 bar e 40 °C); (b) depressurização; (c) 2ª etapa (200 bar, 40 °C, CO ₂ + 7,5 % etanol)...	100
Figura 19: Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos de torta de chia obtidos por ESC e ESC-S.....	101

Figura 20: Curva experimental e modelada da extração supercrítica de torta de chia a 200 bar e 50°C.....	107
Figura 21: Curva experimental e modelada da extração supercrítica da torta de chia a 150 bar e 40°C.....	107
Figura 22: Curva experimental e modelada da primeira etapa de extração supercrítica sequencial de torta de chia a 150 bar e 50°C.....	112
Figura 23: Curva experimental e modelada da segunda etapa de extração supercrítica sequencial de torta de chia a 200 bar e 50 °C.....	112
Figura 24: Curva experimental e modelada supercrítica sequencial da torta de chia, sendo: ● = primeira etapa a 150 bar e 40 °C; ◆ = segunda etapa, após despressurização rápida, a 200 bar e 40 °C.....	114
Figura 25: Contribuição percentual dos custos de processo de ESC da torta de chia a 150 bar e 40 °C.....	120
Figura 26: Contribuição percentual dos custos de processo de ESC-Desp da torta de chia a 150 bar e 40 °C.....	120
Figura 27: Curva padrão do ácido clorogênico, utilizada na análise de TFT.....	155
Figura 28: Curva padrão do ácido gálico, utilizada na análise de TFT.....	155
Figura 29: Curva de calibração de Trolox, utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS.....	156

NOMENCLATURA

b	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003) (min^{-1})
b	Parâmetro ajustável do modelo de Esquível et al. (1999)
CER	Etapa de taxa constante de extração
CO_2	Dióxido de carbono
COL	Custo com trabalho operacional (US\$/ano)
COM	Custo de manufatura (US\$/ano)
CRM	Custo com matéria-prima (US\$/ano)
CUT	Custo com utilidades (US\$/ano)
D_m	Coefficiente de difusão (m^2/min)
EQM	Erro médio quadrático
ESC	Extração supercrítica
ESC-S	Extração supercrítica sequencial
ESC-Desp	Extração supercrítica sequencial realizada até a etapa de despressurização rápida
FCI	Fração de investimento (US\$/ano)
FER	Etapa de taxa decrescente de extração
h	Coordenada axial do leito de extração (cm)
H	Comprimento total do leito de extração (cm)
k_{xa}	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida (s^{-1})
k_{ya}	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida (s^{-1})
m	Massa total de matéria-prima (g, kg)
m_0	Massa total inicial de soluto na coluna de extração (g, kg)
M	Taxa de extração (g/min)
m_{ext}	Massa de extrato (g, kg)
M_{SI}	Massa de sólido inerte (g, kg)
n	Número inteiro
Q_{CO_2}	Vazão de solvente (g/min, kg/h)
r	Raio da partícula sólida (cm)
t	Tempo de extração (min)
t_m	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003) (min)
V_1	Volume da célula de extração (m^3)
x_0	Razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg)

X_0	Rendimento de extração (%)
X_k	Razão mássica de soluto de difícil acesso (kg/kg)
X_p	Razão mássica de soluto de fácil acesso (kg/kg)
Z	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a convecção na fase fluida do leito de extração
Z_w	Parâmetro do segundo período de extração do modelo de Sovová (1994)
Y^*	Solubilidade do soluto no solvente (g/g, kg/kg)
Y	Razão mássica de soluto no solvente (g/g, kg/kg)
W	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a difusão na fase sólida do leito de extração
δ	Meia espessura das partículas (m)
ε	Porosidade do leito de extração
ρ	Massa específica do solvente (g/cm ³)
ρ_a	Massa específica aparente do leito (g/cm ³)
ρ_r	Massa específica real das partículas (g/cm ³)
ρ_s	Massa específica do sólido (g/cm ³)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
1.1. OBJETIVOS	27
1.1.1. Objetivo geral.....	27
1.1.2. Objetivos Específicos.....	27
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1. CHIA.....	29
2.1.1. Composição nutricional da semente de chia	29
2.1.2. Processamento da chia e resíduos gerados.....	32
2.2. ANTIOXIDANTES.....	32
2.2.1. Compostos fenólicos	33
2.3. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	35
2.3.1. Extração em Soxhlet	35
2.3.2. Ultrassom	36
2.3.3. Maceração	37
2.3.4. Extração supercrítica (ESC)	38
2.4. MODELAGEM MATEMÁTICA	46
2.5. DETERMINAÇÃO DE CUSTOS.....	47
3. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	49
3.2. PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA	49
3.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS.....	50
3.4. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ	50
3.5. CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS DA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.....	51
3.5.1. Determinação do diâmetro médio de partículas.....	51

3.5.2. Determinação da massa específica aparente do leite de ESC (ρ_a).....	51
3.5.3. Determinação da massa específica real das partículas (ρ_r) .	52
3.5.4. Porosidade do leite de ESC	52
3.6. DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DO CO ₂ SUPERCRÍTICO	52
3.7. DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO EXTRATO DE CHIA EM SC-CO ₂	52
3.8. EXTRAÇÕES A BAIXA PRESSÃO	53
3.8.1. Extração em Soxhlet	53
3.8.2. Extração através de maceração	54
3.8.3. Extração com ultrassom.....	54
3.9. EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA	55
3.9.1. Determinação do rendimento global de extração.....	55
3.9.2. Experimentos cinéticos	56
3.9.3. Emprego de cossolvente	57
3.9.4. Extração supercrítica sequencial (ESC-S)	58
3.10. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	59
3.10.1. Método ABTS.....	59
3.11. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	60
3.12. DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS .	61
3.13. ANÁLISE DE ESTIMATIVA DE CUSTOS.....	62
3.14. MODELAGEM MATEMÁTICA	63
3.15. DETERMINAÇÃO ATIVIDADE ANTIMICROBIANA ...	64
3.15.1. Difusão em ágar.....	64
3.15.2. Determinação da concentração mínima inibitória	64
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	67
4.1.1. Teor de umidade e substâncias voláteis	67
4.1.2. Teor de lipídios	67

4.1.3. Índice de acidez.....	68
4.2. CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS de esc .	68
4.3. ENSAIOS CINÉTICOS DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA...	69
4.4. RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO	72
4.5. EMPREGO DE COSSOLVENTE.....	76
4.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE EXTRATOS OBTIDOS POR EXTRAÇÕES A BAIXA PRESSÃO E EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA	79
4.6.1. Teor de fenólicos totais (TFT)	79
4.6.2. Determinação da atividade antioxidante através do método ABTS	82
4.6.3. Determinação do perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos em extração a baixa pressão e extração supercrítica	85
4.6.4. Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos em extração a baixa pressão e extração supercrítica	88
4.7. EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA SEQUENCIAL	92
4.8. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS OBTIDOS POR ESC-S.....	100
4.8.1. Determinação do teor de fenólicos totais (TFT) e atividade antioxidante (AA) pelo método ABTS	100
4.8.2. Perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos por extração supercrítica sequencial.....	102
4.8.3. Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos por extração supercrítica sequencial.....	104
4.9. MODELAGEM MATEMÁTICA.....	105
4.9.1. Modelagem das curvas de ESC.....	105
4.9.2. Modelagem das curvas de ESC-S	109
4.10. ESTIMATIVA DE CUSTOS DE MANUFATURA	114
5. CONCLUSÕES	122
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127

APÊNDICE A - DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO	147
ANEXO A - MODELOS MATEMÁTICOS	149
ANEXO B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO.....	155

1. INTRODUÇÃO

A chia (*Salvia hispanica*) é uma semente antiga, originária da região centro-oeste do México ao norte da Guatemala, muito consumida pelo povo Asteca, principalmente por aqueles que precisavam de força e resistência física. Apesar de ser uma semente bastante antiga, o consumo de chia vem aumentando desde as últimas décadas, onde vem sendo desenvolvidos mais estudos sobre a semente. A chia possui altos teores de ácidos graxos essenciais, especialmente ácido linoleico (ω -6) e α -linolênico (ω -3), fundamentais para a manutenção das funções celulares normais, além de possuírem atividades anti-inflamatória e cardioprotetora (JEONG et al., 2010; SIMOPOULOS, 2002). A chia também é uma importante fonte de compostos fenólicos, que agem como antioxidantes naturais, possuem propriedades anti-inflamatórias, antitrombóticas e anti-tumorais (ALI et al., 2012). Além disso, a chia possui alto teor de fibras, cujo consumo auxilia no funcionamento intestinal. Dessa forma, o consumo da chia em semente, ou do seu óleo, está totalmente relacionado a uma boa saúde.

Na indústria, a produção de óleo de chia é feita através de prensagem a frio das sementes. Este processo gera como resíduo a torta de chia, que atualmente é utilizada na fabricação de farinha de chia e ração animal, produtos estes que possuem baixo valor agregado. Visto que a chia é uma importante fonte de ácidos graxos essenciais e compostos fenólicos, supõe-se que o subproduto gerado a partir da prensagem das sementes mantenha estes compostos, ou ao menos parte deles. Atualmente, são escassos estudos que utilizam a torta de chia como matéria-prima para obtenção de compostos biologicamente ativos. Desta forma o reaproveitamento da torta de chia e sua utilização na extração de compostos de interesse, possibilita a valorização biológica e nutricional, além da agregação de valor deste subproduto.

A extração de óleo a partir de matrizes vegetais por vezes é realizada com o auxílio de solventes orgânicos. Entretanto, o processo de eliminação do solvente é um processo que requer temperaturas relativamente altas, o que pode causar a degradação de compostos de interesse presentes nos extratos, além de poder deixar resíduos no produto e ser prejudicial ao meio ambiente.

A extração supercrítica (ESC) é uma alternativa de extração que proporciona grandes vantagens perante as técnicas de extração de baixa pressão, como a ausência de luz e de oxigênio durante o processo de extração, reduzindo a incidência de reações de degradação (PALMA; TAYLOR, 1999), além de permitir a modulação contínua do poder de

solvatação e da seletividade do solvente (REVERCHON; DE MARCO, 2006). Por fim, é um processo amigável para o meio ambiente por produzir extratos isentos de solvente orgânico e por permitir o contínuo reaproveitamento do solvente supercrítico. A modulação do poder de solvatação do solvente é uma propriedade que confere grande versatilidade ao processo de extração supercrítica. Desta forma, esta é uma característica que pode ser explorada e estudada mais a fundo através da realização de ensaios de extração supercrítica sequencial (ESC-S).

A aplicação industrial da ESC ainda é escassa, apesar de todas as vantagens já conhecidas, principalmente devido ao alto custo para implementação de uma unidade. Esta questão deve ser detalhadamente estudada, a fim de viabilizar economicamente o processo. São também escassos estudos relacionados a aplicação de etapas sequenciais e de depressurização rápida em processos de ESC, os quais permitem o seu aprimoramento e redução de custos. Desta forma, torna-se necessária a realização de estudos relativos a melhoria do processo, estimativa de custos e análise da viabilidade econômica de ESC, buscando a sua aplicação industrial.

Este trabalho dedica-se, portanto, a estudar e comparar técnicas de extração a baixa e alta pressão, aplicadas para a valorização do subproduto da obtenção do óleo de semente de chia, bem como buscar condições de operação que tornem o processo de ESC mais viável.

1.1.OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Estudar a extração supercrítica da torta de chia buscando concentrar compostos bioativos, avaliando variáveis operacionais, custos e os mecanismos de transferência de massa envolvidos no processo.

1.1.2. Objetivos Específicos

- a) Obter extratos de torta de chia através de diferentes sistemas de extração a baixa pressão.
- b) Obter extratos de torta de chia através de ESC com CO₂, em diferentes condições de pressão e temperatura de operação e comparar o rendimento de ESC com as técnicas de extração a baixa pressão;
- c) Avaliar e comparar a atividade antioxidante dos extratos obtidos em extrações a baixa pressão e ESC através do método ABTS;
- d) Determinar e comparar o teor de fenólicos totais dos extratos obtidos em extrações a baixa pressão e ESC através do método de Folin-Ciocalteu;
- e) Avaliar e comparar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos dos extratos obtidos em extrações a baixa pressão e ESC;
- f) Avaliar e comparar o perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos em extrações a baixa pressão e ESC através de cromatografia gasosa;
- g) Definir condições operacionais e o tipo de solvente orgânico para os experimentos de ESC com CO₂ + cossolvente, realizando ensaios com diferentes concentrações de cossolvente;
- h) Selecionar condições ótimas de pressão, temperatura, concentração e tipo de cossolvente para a aplicação em cada etapa de ESC-S, visando a obtenção de diferentes frações de extratos;
- i) Avaliar extratos e rendimento das diferentes etapas da ESC-S e comparar com extratos obtidos através de ESC;

- j) Realizar estudo das curvas cinéticas de ESC e ESC-S e aplicação de modelos matemáticos apresentados na literatura;
- k) Realizar a estimativa de custos dos processos de ESC, avaliando diferentes condições operacionais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CHIA

A chia (*Salvia hispanica* L.) é uma planta herbácea anual, que pertence à família *Lamiaceae*, nativa do sul do México e norte da Guatemala (IXTAÍNA; NOLASCO; TOMÁS, 2008). Seu cultivo se dá principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Apesar de pouco tolerante ao frio, a chia pode ser cultivada em estufas, como é o caso em algumas partes da Europa (HUXLEY, 1992). Atualmente a chia é cultivada comercialmente no México, Bolívia, Argentina, Equador e Guatemala (COATES; AYERZA, 1996).

Sementes de Chia foram muito utilizadas pelas tribos astecas. Elas são importantes não só como alimento, mas também na fabricação de medicamentos e tintas. É tradicionalmente consumida no México e no sudoeste dos Estados Unidos, em uma quantidade menor na América do Sul, mas não é amplamente conhecida na Europa. A chia tem sido investigada e recomendada devido ao seu teor de óleo, proteína, antioxidantes e teor de fibra dietética (PALMA; DONDE; LLOYD, 1947; EARLE et al., 1960; BUSHWAY et al., 1981; TAGA et al., 1984; AYERZA, 1995). Atualmente, o óleo de semente de chia tem recebido maior atenção da população, uma vez que pode melhorar a nutrição humana, sendo uma fonte natural de ácidos graxos ω -3, ω -6 e antioxidantes.

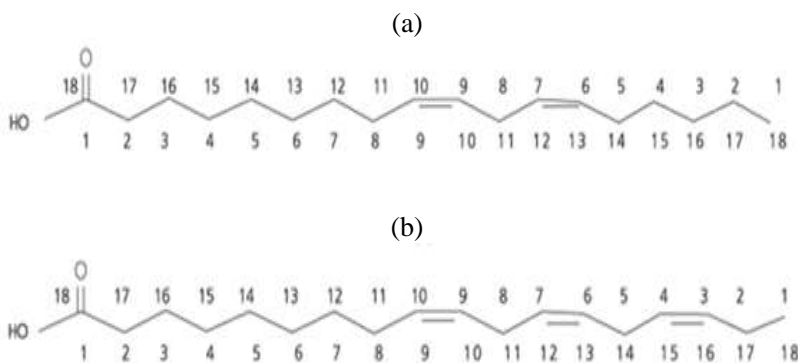
2.1.1. Composição nutricional da semente de chia

A semente de chia é rica em diversos micro e macronutrientes essenciais à saúde humana, como cálcio (456 mg/100 g), proteínas (24 g/100 g) e fibras (30 g/100 g) (JIN et al., 2012).

Grãos de chia têm sido estudados principalmente devido à qualidade do seu óleo. A semente contém entre 0,25 e 0,38 g de óleo/g de semente, onde os constituintes principais são os triglicerídeos, nos quais os ácidos graxos poli-insaturados (ácido α -linolênico e ácido linoleico) estão presentes em quantidades elevadas (AYERZA, 1995; IXTAÍNA et al., 2011a; PALMA; DONDE; LLOYD, 1947). Estes compostos são considerados essenciais porque o corpo humano não é capaz de sintetizá-los, por isso, incorporá-los na dieta é extremamente importante no que diz respeito à saúde.

Os ácidos graxos essenciais estão divididos em dois grandes grupos, que são os ácidos graxos da família Ômega 3 (ω -3) e Ômega 6 (ω -6). (GIBSON; MAKRIDES, 2000; DE ANGELIS, 2001). Os ácidos graxos ω -3 e ω -6 apresentam insaturações separadas por um carbono metilênico, com a primeira instauração no terceiro e no sexto carbono, respectivamente, sendo a cadeia enumerada a partir do grupo metil terminal. A Figura 1 apresenta as estruturas dos ácidos linoleico e α -linolênico.

Figura 1: Estruturas dos Ômega 6 (a) e Ômega 3 (b)



Fonte: NAKAMURA; NARA, (2004); MARTIN et al., (2006).

O consumo de óleos ricos em ácidos graxos ω -3 é muito importante pois eles desempenham um papel fundamental na prevenção e tratamento de doenças das artérias coronárias, hipertensão, diabetes, artrite, outras doenças inflamatórias e autoimunes e câncer (SIMOPOULOS, 1991). Os ácidos graxos poli-insaturados ácido α -linolênico, e ácido linoleico inibem a proliferação de linfócitos e citocinas pró-inflamatórias, incidência de doenças cardiovasculares e mantém a integridade das membranas celulares e dos neurotransmissores (YAO et al., 2012; LUDWIG et al., 2013).

Fontes alimentares de ácido graxo poli-insaturado ω -3 incluem óleos de peixe ricos em ácidos eicosapentaenóico e docosaheptaenóico, e plantas ricas em ácido α -linolênico (ALA) (HARPER, JACOBSON, 2001). A chia possui 25-38% de óleo em peso, com a maior proporção de ALA (~60%) em comparação com outras espécies vegetais conhecidas, e um alto teor de ácido linoleico (LA) (~20%) (AYERZA, 1995, ALI et al., 2002, PALMA, DONDE, LLOYD, 1947). Dubois et

al. (2007) têm considerado óleo de semente de chia como uma fonte interessante destes dois ácidos graxos essenciais, com um bom equilíbrio entre suas quantidades. A Tabela 1 apresenta o perfil de ácidos graxos de extratos de semente de chia obtidos por Ixtaña et al. (2011b).

Tabela 1: Perfil de ácidos graxos da chia

Ácidos Graxos (%)	250 bar – 40 °C	250 bar – 60 °C	450 bar – 40 °C	450 bar – 60 °C	Soxhlet - hexano
Ácido palmítico (16:0)	6,6 ± 0,4	6,6 ± 0,2	6,7 ± 0,4	6,7 ± 0,4	6,2 ± 0,4
Ácido esteárico (18:0)	2,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	3,0 ± 0,3	3,0 ± 0,2	3,0 ± 0,7
Ácido oleico (18:1)	5,2 ± 0,1	5,5 ± 0,3	5,2 ± 0,6	5,0 ± 0,1	5 ± 1
Ácido linoleico (18:2)	20,0 ± 0,0	20,2 ± 0,0	20,1 ± 0,1	20,3 ± 0,1	19,8 ± 0,0
Ácido α-linolênico (18:3)	65,5 ± 0,3	64,9 ± 0,4	64,9 ± 0,7	65,0 ± 0,4	65,6 ± 0,8

Fonte: Ixtaña et al. (2011b)

Muitos óleos vegetais são protegidos por antioxidantes polifenólicos endógenos naturais. Estes antioxidantes exercem um efeito protetor em lipídios de plantas, já que óleos naturais contêm altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (PRATT, 1980) que são geralmente muito susceptíveis à oxidação. Os polifenóis responsáveis por essa ação protetora são geralmente flavonóides e derivados de ácido cinâmico, que ocorrem abundantemente em todo o reino vegetal (PRATT, 1976; HUDSON 1983).

Antioxidantes naturais protegem o corpo humano contra radicais livres, inibem muitas doenças crônicas e previnem a oxidação lipídica em alimentos. Compostos fenólicos são importantes componentes de muitas plantas comestíveis, incluindo soja, canola, linhaça e azeite de oliva, que são usados como fontes de alimento ou ingrediente alimentar (ALU' DATT et al., 2013).

Sementes de chia são uma promissora fonte de antioxidantes, devido à presença de polifenóis, ácidos clorogênico e cafeico, miricetina, quercetina e kaempferol (IXTAÍNA et al., 2011a; REYES-

CAUDILLO; TECANTE; VALDIVIA-LÓPEZ, 2008) que são capazes de proteger o organismo contra condições adversas, como doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (AYERZA; COATES, 2001; CRAIG, 2004).

No estudo realizado por Ixtaína et al. (2011a) foram obtidos extratos de chia através de prensagem e extração em Soxhlet com hexano. Os principais compostos fenólicos detectados foram ácidos clorogênico e cafeico, seguido de miricetina, quercetina e kaempferol. Estes compostos também foram encontrados em sementes de chia em estudos realizado por Reyes-Caudillo, Tecante e Valdivia-López (2008) e Taga et al. (1984). É interessante notar que a maior parte dos compostos polifenólicos encontrados em óleo de semente de chia não estão presentes em outras oleaginosas (TUBEROSO et al., 2007).

2.1.2. Processamento da chia e resíduos gerados

No Brasil existem poucas indústrias processadoras de chia. A produção industrial de óleo de chia é realizada através de extração por prensagem a frio. Como resultado da prensagem da chia, obtêm-se o óleo e a torta de chia. O óleo prossegue na linha de produção até o envase, e a torta de chia torna-se um resíduo de processo, sendo geralmente comercializada como ração animal ou como farinha, a um baixo custo.

Capitani et al. (2012) realizaram um estudo com resíduos sólidos de extração em Soxhlet com hexano e através de prensagem mecânica. Como resultado, percebeu-se que os resíduos sólidos de prensagem exibiram uma atividade antioxidante elevada, que está associado à presença de compostos polifenólicos e de tocoferóis. Além da propriedade antioxidante, propriedades funcionais e capacidade de formação de emulsões estáveis também foram mantidas. Estas características tornam subprodutos da chia interessantes na fabricação de produtos tais como sobremesas, bebidas, pães, geleias, emulsões, biscoitos, entre outros (CAPITANI, 2012).

2.2. ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar significativamente a oxidação de substratos oxidáveis. A importância dos antioxidantes para os alimentos e sistemas biológicos é bem conhecida, uma vez que protegem os mesmos dos processos oxidativos (BISCAIA, 2007).

Os antioxidantes podem ser enzimas (superóxido dismutase e catalase), vitaminas (vitamina E, β -caroteno, vitamina C), minerais (selênio vinculado a enzimas) e ácidos fenólicos. São compostos capazes de capturar radicais livres, prevenir doenças do coração, doenças degenerativas, câncer e catarata (VILLARREAL-LOZOYA; LOMBARDINI; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007).

A origem das substâncias antioxidantes pode ser sintética ou natural. Os antioxidantes butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e galato de propila (GP) são exemplos de antioxidantes sintéticos que atuam inibindo a etapa de propagação da reação de oxidação. Antioxidantes sintéticos são amplamente utilizados, no entanto eles apresentam diferentes problemas toxicológicos (AMAROWICZ et al., 2000). A legislação sobre a segurança dos alimentos tornou-se progressivamente mais rigorosa, exigindo o uso de testes de toxicidade para os antioxidantes sintéticos. Adicionalmente, os consumidores tendem a usar produtos naturais como antioxidantes, como estes são mais seguros e não necessitam de pré-teste (MASON et al., 2007).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de muitas espécies de plantas, normalmente daquelas utilizadas como condimentos, por serem excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser utilizadas como conservantes naturais em alimentos (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

2.2.1. Compostos fenólicos

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005).

Originados do metabolismo secundário das plantas, os compostos fenólicos são essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiação ultravioleta, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Os compostos fenólicos são considerados os componentes antioxidantes mais importantes presentes em especiarias e em outros materiais derivados das plantas, e existe uma grande correlação entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante total (HU; SKIBSTED, 2002). Um grande número de plantas aromáticas e medicinais contém compostos químicos que exibem propriedades

antioxidantes, e estes efeitos são devidos principalmente aos compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos e diterpenos fenólicos (PIETTA; SIMONETTI; MAURI, 1998; MILIAUSKAS; VENSKUTONIS; VAN BEEK, 2004).

Os ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por três carbonos, ligada ao anel. Os ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza (BELITZ; GROSCH, 1988; DURÁN; PADILLA, 1993; HARBORNE, 1973).

O ácido cafeico, composto fenólico presente na semente de chia, é um derivado do ácido cinâmico, juntamente com o ácido *p*-coumárico, ácido ferúlico e ácido sináptico. Praticamente todos os tecidos vegetais possuem ao menos um destes quatro ácidos (SIMÕES et al., 2010). Esse polifenol está presente em muitas fontes de alimentos, incluindo bebidas de café, mirtilos e maçãs (CLIFFORD, 2000). Além de atuar como um inibidor de câncer (HUANG; FERRARO, 1992; GREENWALD, 2004), sabe-se também que o ácido cafeico possui atividade antioxidante *in vitro* (SANCHEZ-MORENO; JIMENEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2000).

Entre os compostos derivados do ácido cafeico, tem-se o ácido clorogênico, também presente na semente de chia. Este é um composto fenólico formado pela esterificação do ácido cafeico com o ácido quínico. O ácido clorogênico, assim como o ácido cafeico, possui grupos hidroxila vizinhos em um resíduo aromático, que exibem atividades anti-mutagênicas, anticancerígenas e antioxidantes, *in vitro*, que possuem a capacidade de eliminar as espécies reativas de oxigênio (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Os compostos kaempferol, quercitina e miricetina são flavonoides, da sub-classe flavonóis, presentes na semente de chia. Os flavonóides exibem propriedades antioxidantes fortes, proporcionando atividade eliminadora direta ao impedir a reação de Fenton, relacionada com oxigênio (BRANDI, 1992). A peroxidação lipídica pode desempenhar um papel importante no envelhecimento celular e toxicidade de oxigênio em geral. Os flavonóides inibem a peroxidação lipídica não enzimática (MORA et al., 1990), sendo encontrados em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais (SIMÕES et al., 2010).

2.3. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes de matrizes vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Dentre esses, estão os processos tradicionais de extração a baixa pressão, como Soxhlet, ultrassom e maceração, que utilizam normalmente os solventes orgânicos, e como alternativa pode-se citar também os processos baseados em tecnologia supercrítica, os quais utilizam solventes em estado supercrítico.

Antes de executar a extração, devem-se levar em consideração as características do material vegetal, o seu grau de divisão, o meio extrator e a metodologia empregada no processo de extração do óleo (SIMÕES et al., 2010). O solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível. É graças à seletividade que é possível extrair apenas as substâncias desejadas ou maior quantidade das mesmas. Como a seletividade depende da polaridade, o conhecimento do grau de polaridade do grupo de substâncias que se deseja preferencialmente extrair determina o solvente ou mistura de solventes que mais se aproxima do ótimo de seletividade para uma determinada extração (SIMÕES et al., 2003).

2.3.1. Extração em Soxhlet

As mais notáveis vantagens que o método de extração em Soxhlet apresenta são: A amostra está sempre em contato com o solvente, havendo sua constante renovação, o que facilita o equilíbrio da transferência; A temperatura do sistema mantém-se relativamente alta, sendo esta a temperatura de ebulição do solvente empregado, o que pode contribuir para a extração dos compostos que se encontram nos poros da matriz sólida; É uma metodologia muito simples que não requer treinamento especializado e que possibilita a extração de uma quantidade maior de óleo em relação a outros métodos, sem a necessidade de filtração da micela após o término da extração, pois a amostra esteve envolta no cartucho durante todo o procedimento; Existe a possibilidade de se realizar várias extrações simultaneamente, devido ao baixo custo do equipamento (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

Uma desvantagem da extração em Soxhlet é a necessidade de um longo tempo de extração (horas) e a geração de quantidades consideráveis de resíduos de solventes, o que cria problemas ambientais

e custos para o tratamento do resíduo. Além disso, a amostra em contato com o solvente permanece em temperatura maior que a temperatura ambiente, podendo chegar até a temperatura de evaporação dos solventes. Isto pode acarretar a perda de compostos alvos termolábeis (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

2.3.2. Ultrassom

O ultrassom é uma onda mecânica que se diferencia do som audível pelos seres humanos por apresentar frequências maiores que 20 kHz (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE; PERALBO-MOLINA, 2011; CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011) e propaga-se em meios sólidos, líquidos e gasosos (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007; SERRADILLA; PRIEGO-CAPOTE; LUQUE DE CASTRO, 2007). Um dos fenômenos produzidos quando o ultrassom propaga-se nos líquidos é o fenômeno de cavitação (ESCLAPEZ et al., 2011). Este fenômeno é caracterizado por ciclos de expansão e compressão que geram bolhas no interior do líquido empregado no processo, que não podendo mais absorver a energia gerada pelo ultrassom, implodem, liberando grande quantidade de calor e exercendo elevadas pressões próximas a região da implosão (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007; CÁRCEL et al., 2012; VEILLET et al., 2010). A presença de materiais sólidos no sistema provoca uma implosão assimétrica das microbolhas, gerando jatos que colidem com as superfícies sólidas e também ocasiona a circulação de líquidos, devido à turbulência gerada (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007; SHIRSATH et al., 2012). Essas colisões fazem com que células vegetais sejam rompidas, facilitando a difusão do solvente extrator para o interior da matriz, aumentando o contato entre as fases soluto/solvente e assim, facilitando a liberação dos extratos (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007). Além disso, o calor liberado pelas implosões aumenta a solubilidade dos analitos, favorecendo o aumento da eficiência da extração (VEILLET et al., 2010).

A utilização de ultrassom em processos de extração tem chamado cada vez mais a atenção devido à sua maior eficiência e ao reduzido tempo de extração, comparado com as extrações convencionais, tais como em Soxhlet e maceração (MA et al., 2008).

Outro efeito que ocorre durante a cavitação é a formação de radicais, que podem eventualmente reagir com os compostos de interesse presentes na amostra, ocasionando a oxidação dos mesmos (SORIA; VILLAMIEL, 2010), o que torna isso uma desvantagem do

método. Esses radicais são formados devido à dissociação da molécula da água ou de outros gases que possam migrar para o interior da bolha causada pelo calor e a alta pressão produzida durante a implosão das bolhas de cavitação (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007).

Os dispositivos mais comuns para aplicação de ondas ultrassônicas são banho e sonda. Apesar de os banhos serem os equipamentos mais utilizados, estes apresentam desvantagem por dificultar a reprodutibilidade experimental: a falta de uniformidade na distribuição da energia ultrassônica, uma vez que apenas uma pequena fração do volume total de líquido nas imediações da fonte de ultrassom sofre cavitação (LUQUE-GARCÍA; LUQUE DE CASTRO, 2003). Devido à sonicação direta, é conveniente resfriar o sistema de extração, pois a absorção da energia ultrassônica gera um aumento de temperatura (SHIRSATH et al., 2012), o que pode resultar na degradação de substâncias termolábeis.

Em relação à extração em Soxhlet, a extração com ultrassom apresenta como vantagens o aumento da polaridade do sistema através da cavitação, levando a um aumento da eficiência de extração; permite a adição de um cossolvente que aumente a polaridade da fase líquida; possibilita a extração de compostos termicamente sensíveis que sofrem alterações nas condições operacionais de extração em Soxhlet e ainda apresenta tempo de operação inferior ao empregado nesta técnica (LUQUE-GARCÍA; LUQUE DE CASTRO, 2003). Da mesma forma que na extração em Soxhlet, na extração por ultrassom é necessária uma etapa de eliminação do solvente para a obtenção do extrato. Desta forma, a extração por ultrassom gera resíduos de solvente, que devem ser tratados de maneira correta, visando não prejudicar o meio ambiente. Além disso, a extração por ultrassom necessita de um processo de filtração, para a separação da matéria-prima sólida da solução com extrato.

Segundo Vinatoru (2001), o emprego do ultrassom pode ser uma importante ferramenta para indústria de extração de fitoquímicos, podendo ser utilizado em pequena ou grande escala.

2.3.3. Maceração

A maceração é uma técnica de extração realizada em recipiente fechado, temperatura ambiente, durante um longo período (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do solvente extrator. Essa técnica utiliza solventes orgânicos em função da polaridade. Pela natureza, não conduz ao esgotamento da matéria-prima vegetal, seja

devido à saturação do líquido extrator, ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula (FERRI, 1996).

Assim como para a extração em Soxhlet, a maceração requer uma etapa posterior de eliminação do solvente, exigindo um grande dispêndio de energia. Este tipo de extração produz resíduos prejudiciais ao meio ambiente e extratos não totalmente livres de solvente. Além disso, o uso prolongado e de grande quantidade de solventes orgânicos pode acarretar problemas à saúde humana (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; ÖZCAN; ÖZCAN, 2004). Na extração por maceração também há a necessidade de uma etapa filtração, para separação da amostra sólida da solução de extrato.

2.3.4. Extração supercrítica (ESC)

A extração supercrítica surge como alternativa à extração com solventes que são largamente usados hoje pelas indústrias farmacêutica, química e de alimentos (PEREDA; BOTTINI; BRIGNOLE, 2008). A extração com solventes orgânicos deixa resíduos indesejáveis no produto final (LI; BELLMER; BRUSEWITZ, 1999). Dessa forma, tecnologia supercrítica é uma opção para obter os compostos de interesse com um processo com baixos impactos ambientais.

A tecnologia supercrítica permite a extração de compostos ativos de plantas com uma melhor reprodução de aromas do que as operações convencionais. A degradação térmica de compostos sensíveis é evitada por operar em temperaturas mais baixas enquanto a ausência de luz e oxigênio previne reações de oxidação, o que constitui uma grande vantagem para a extração de antioxidantes, garantindo a conservação de suas propriedades biológicas. Os materiais processados por fluidos supercríticos não necessitam de uma etapa à parte para esterilização, uma vez que o gradiente de pressão na saída do extrator pode gerar extratos livres de microrganismos vivos e de esporos (ADIL et al., 2007; CORTESI et al., 1999; DÍAZ-REINOSO et al., 2006). Depois de extraídos os compostos de interesse, a matriz pode ser usada em outras aplicações como alimentação animal, por exemplo, por não possuir resíduo de solvente (MEZZOMO, 2008).

A tecnologia de extração com fluido supercrítico teve grandes avanços desde a sua criação e é um método de extração utilizado em muitas indústrias de processamento de alimentos, fármacos e cosméticos. Ao longo das duas últimas décadas, a ESC foi bem recebida como uma técnica de processamento ambientalmente amigável, sendo

em alguns casos, uma alternativa à extração de produtos naturais com solvente orgânico (HERRERO et al., 2010). Alguns exemplos da utilização da ESC são a remoção da cafeína de grãos de café e folhas de chá preto, produção de extrato de lúpulo, extração de compostos aromáticos de especiarias, além da extração de componentes nocivos a partir de produtos nutracêuticos (BRUNNER, 1994; BRUNNER, 2005; KORHONEN, 2002).

A ESC trata-se de uma tecnologia de separação que utiliza um solvente no estado supercrítico. Uma substância pura se encontra no estado supercrítico quando sua temperatura e pressão estão acima dos valores críticos, ponto crítico (BRUNNER, 1994).

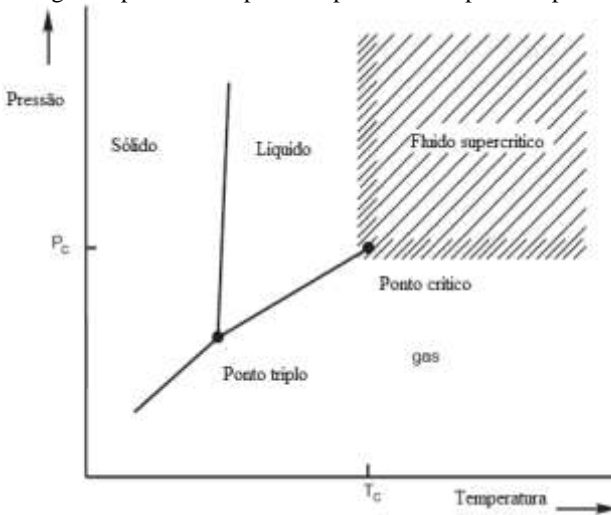
Algumas vantagens da ESC sobre as técnicas convencionais de extração estão relacionadas à possibilidade de ajuste contínuo do poder de solvatação e seletividade do solvente, à não utilização de solventes orgânicos poluentes e ausência da necessidade de uma etapa de eliminação do solvente. A degradação térmica e decomposição de compostos voláteis podem ser evitadas através do emprego de baixas temperaturas e a ausência de luz e oxigênio previnem reações de oxidação (REVERCHON; DE MARCO, 2006; DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

Uma das poucas desvantagens da ESC é o aumento dos custos de investimento, se comparada às técnicas tradicionais de extração à pressão atmosférica (REVERCHON; DE MARCO, 2006). Apesar disso, é um dos poucos processos que apresentam capacidade de produzir produtos isentos de solventes e de lidar com material de alta viscosidade (BRUNNER, 2005).

A extração com fluidos supercríticos é uma operação unitária por contato que se fundamenta no equilíbrio de fases (solubilidade) e nas propriedades físico-químicas dos fluidos supercríticos. Esta técnica é particularmente efetiva no isolamento de substâncias de massa molar média e polaridade relativamente baixa (PEREDA; BOTTINI; BRIGNOLE, 2008).

Um fluido supercrítico (FSC) é qualquer substância a uma temperatura e pressão acima de seu ponto crítico (Figura 2). A temperatura crítica (T_c) é a temperatura mais alta, na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica (P_c) é a pressão mais elevada, na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura do líquido (GÓMEZ; OSSA, 2002; FREITAS, 2007).

Figura 2: Diagrama pressão-temperatura para um componente puro



Fonte: Andrade (2011), adaptado de MUKHOPADHYAY (2000)

A área em torno do ponto crítico de um componente (ou de uma mistura) pode ser chamada de “região crítica”, abrangendo condições sub e supercrítica. As propriedades do fluido supercrítico com maior importância para a extração são a densidade, a viscosidade e o coeficiente de difusão, os quais tomam valores que se aproximam dos valores dos líquidos, no caso da densidade e que se aproximam dos gases, no caso da viscosidade. Nas proximidades do ponto crítico é onde se produzem com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações na densidade do fluido supercrítico e por consequência do seu poder solvente (BRUNNER, 1994).

No caso de uma mistura, a mesma se encontra no estado supercrítico se, em determinada concentração, a pressão e a temperatura são iguais ou superiores a do ponto crítico da mistura. No ponto crítico as fases gasosa e líquida de um componente se tornam idênticas, e as fases coexistem (BRUNNER, 1994).

O fluido supercrítico mais utilizado é o dióxido de carbono (propriedades críticas: $31,1^\circ\text{C}$ e $7,38\text{ MPa}$). O CO_2 é barato, ecológico, seguro e apresenta alta difusividade combinada com força de solvente facilmente ajustável. Na temperatura e pressão ambiente o CO_2 é gasoso, o que torna a recuperação do analito muito simples e livre de solventes. Além disso, na preparação de amostras de produtos naturais e alimentos é importante a capacidade de operar em baixas temperaturas

usando um meio não oxidante, o que permite a extração de compostos termicamente lábeis ou compostos facilmente oxidáveis (BRUNNER, 1994; HERRERO et al., 2010).

2.3.4.1 Fenômenos de transporte na extração supercrítica

Parâmetros cruciais na ESC são a vazão de solvente, tamanho de partícula de sólido e duração do processo. Outros fatores determinantes do processo de extração são o poder de solubilização e a seletividade do solvente com relação aos componentes de interesse e a capacidade de difusão destes no fluido. A seleção correta destes parâmetros é fundamental para a otimização da extração dos compostos desejados em menor tempo (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Quanto maior o poder de solvatação, maior a solubilidade de um determinado composto e maior o número de compostos solubilizáveis de uma mistura. Desta forma, alta solubilidade significa baixa seletividade e vice-versa. Em processos com solventes supercríticos, o grande potencial para a transferência de massa é determinado pela diferença no estado de equilíbrio (BRUNNER, 1994; MUKHOPADHYAY, 2000; AGHEL et al., 2004).

A extração supercrítica ocorre basicamente através de dois fenômenos: solubilização dos compostos presentes na matriz sólida e separação desses do solvente supercrítico. Durante a extração, o solvente flui através do leito de partículas, solubilizando os compostos presentes na matriz vegetal. O solvente sai do extrator carregando as substâncias solubilizadas, e por meio da redução da pressão, o extrato é liberado do solvente (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Na extração supercrítica ocorre a transferência de massa e de calor. A capacidade do fluido supercrítico de transportar massa é determinada pela sua viscosidade, já a capacidade de transportar energia, é determinada pela condutividade térmica, e o transporte molecular é determinado pelo coeficiente de difusão. O aumento da pressão influencia drasticamente estas propriedades de transporte (BRUNNER, 1994).

Um parâmetro importante que influencia no transporte de substâncias, além do tamanho, geometria e distribuição de partículas, é a distribuição inicial das substâncias do extrato dentro do substrato sólido. As substâncias podem estar absorvidas na superfície externa, sobre a superfície de poros, uniformemente distribuídas dentro do sólido ou no interior das células vegetais. Cada uma destas diferentes distribuições

tem alguma influência no processo de extração. Durante a transferência de massa no leito de extração formam-se perfis de concentração de extrato no sólido e no solvente. O fluido supercrítico passa através do leito e extrai os componentes até a matriz ser esgotada. A concentração do extrato aumenta na direção deste fluxo (BRUNNER, 1994; BRUNNER, 2005). A extração de compostos solúveis de recursos vegetais sólidos ocorre em várias etapas paralelas e consecutivas (BRUNNER, 1994):

- 1) A matriz absorve o solvente supercrítico e outros fluidos (se adicionados à extração). Isto ocasiona o inchaço das membranas e do interior das células do material, diminuindo a resistência ao transporte de massa.
- 2) Em paralelo, os extratos são dissolvidos pelo solvente, sendo que, uma reação química pode ocorrer antes disso.
- 3) Os compostos dissolvidos são transportados para a superfície externa do sólido, sendo a difusão o mecanismo predominante neste caso.
- 4) Os compostos dissolvidos passam pela superfície externa do sólido, quando uma mudança de fase pode ocorrer.
- 5) Os componentes são transportados da camada da superfície do sólido para a massa de fluido supercrítico. Ocorre subsequentemente a remoção dos compostos dessa massa de solvente supercrítico.

A extração de compostos da matriz sólida ocorre através do contato do substrato sólido com um fluxo contínuo de solvente supercrítico, na maior parte dos casos, forma um leito fixo, através do qual o fluido supercrítico escoia e extrai componentes da matriz até que esta seja esgotada (BRUNNER, 1994).

2.3.4.2. Curvas de extração supercrítica

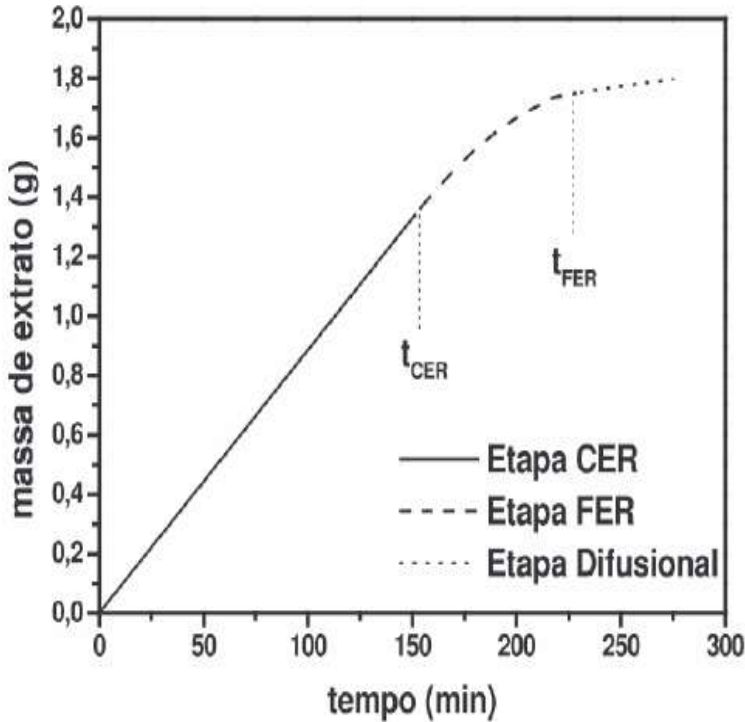
Tanto para o sólido quando para o solvente, a extração supercrítica é um processo transiente. O comportamento do processo de extração pode ser observado através da determinação da quantidade de extrato para cada tempo de extração. A partir destes dados, mais informações do processo podem ser obtidas (BRUNNER, 1994). A otimização de um processo industrial de ESC requer o conhecimento de dados termodinâmicos (solubilidade e seletividade) e dados cinéticos (taxa de transferência de massa) (FERREIRA et al., 1999).

A representação da cinética de extração supercrítica é feita através da construção da curva de extração, que comumente é apresentada como um gráfico da massa acumulada de extrato em função do tempo de extração. A curva obtida depende dos parâmetros de processo e dos fenômenos que ocorrem no leito fixo durante a extração. São vários os fatores que afetam o comportamento das curvas de extração, como por exemplo, vazão de solvente utilizada, tamanho da partícula formadora do leito. Desta forma é difícil fazer a comparação entre curvas obtidas a partir de matérias-primas diferentes e de diferentes equipamentos, mas as informações que ela pode fornecer como a duração da etapa de taxa constante de extração (descrita na sequência) são úteis para comparar uma série de experimentos com o mesmo substrato e o mesmo equipamento (BRUNNER, 1994).

De acordo com Sovová (1994) as curvas de extração são divididas em três períodos, controlados por diferentes mecanismos de transferência de massa. Na Figura 3 estão representados os períodos: (1) período de taxa constante de extração (CER); (2) período de taxa decrescente de extração (FER) e (3) período difusional (SOVOVÁ, 1994; TALANSIER et al., 2008; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009; PEREIRA; MEIRELES, 2010).

- 1) Etapa com taxa constante de extração (CER) a superfície externa da partícula está coberta com o soluto, que é chamado “soluto de fácil acesso”. Neste período a convecção é o mecanismo dominante e, portanto, a resistência à transferência de massa está na fase fluida;
- 2) Etapa com taxa decrescente de extração (FER): falhas na cobertura de soluto sobre a superfície externa começam a aparecer, dando início à difusão do soluto presente no interior da partícula. Nesta etapa os mecanismos de transferência de massa por difusão e por convecção ocorrem simultaneamente;
- 3) Etapa difusional: a camada externa de soluto praticamente desaparece. A transferência de massa se dá por difusão do interior das partículas do substrato. Neste período a resistência à transferência de massa está na fase sólida.

Figura 3: Representação das três etapas da extração de uma curva de ESC



Fonte: Martínez (2005).

2.3.4.3 Rendimento Global de Extração

O rendimento global é definido como a quantidade máxima de soluto que pode ser extraído do substrato sólido em determinadas condições de temperatura e pressão. Em outras palavras, é o rendimento obtido em um processo exaustivo. A construção de isotermas do rendimento global permite analisar os efeitos da temperatura e da pressão sobre a extração. Esta análise pode ser feita em termos de rendimento global de extração como um todo ou do rendimento global de um composto específico. O rendimento global está estreitamente relacionado com a solubilidade do soluto (ou mistura de solutos) no fluido supercrítico (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

2.3.4.4. Extração supercrítica sequencial (ESC-S)

O dióxido de carbono é o fluido no estado supercrítico mais aplicado em alimentos e produtos farmacêuticos. No entanto, a extração utilizando dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂) é restrita para substâncias apolares ou de baixa polaridade. Diante dessa situação, uma alternativa para a utilização de SC-CO₂ na separação de compostos mais polares, é utilizar água ou etanol como cossolvente com objetivo de aumentar a polaridade (BITENCOURT et al., 2014).

Além disso, a utilização de técnicas de extração que envolvem várias etapas sequenciais com SC-CO₂ e combinações de SC-CO₂, etanol, e água pressurizados têm sido muito bem sucedidas na extração e fracionamento antocianinas e fenólicos (SEABRA et al., 2010; PAULA et al., 2013; PAULA et al., 2014; GARMUS et al., 2014) obtendo-se extratos enriquecidos em compostos de interesse.

Para um extrato com muitos componentes, uma extração em vários estágios pode gerar diferentes produtos (BRUNNER, 1994), se os componentes apresentarem diferentes polaridades, massa e pressão de vapor (PEREDA; BOTTINI; BRIGNOLE, 2008). Na extração supercrítica sequencial é possível realizar uma primeira extração operando a baixa densidade de CO₂ quando, por exemplo, em baixa pressão de operação, seguida por uma segunda etapa de extração com alta densidade de CO₂, em alta pressão operacional (BISCAIA; FERREIRA, 2009). Cada estágio de extração pode ser delineado com outras condições de processos, até mesmo com solventes diferentes (BRUNNER, 1994).

No estudo realizado por Bitencourt et al. (2014), a extração sequencial em leito fixo utilizando solventes *green* provou ser uma excelente alternativa aos solventes orgânicos para extrair e fracionar saponinas de raízes de ginseng brasileiro. O processo foi seletivo de acordo com a polaridade do solvente, dando frações enriquecidas em diferentes grupos de compostos (saponinas).

Em outro trabalho, realizado por Garmus et al., (2014) percebeu-se que a extração sequencial é um método efetivo para a obtenção de extratos diferenciados utilizando a mesma matéria-prima. O processo realizado em três etapas sequenciais (CO₂ a 60 °C e 400 bar; etanol a 60°C e 400 bar; água a 60 °C e 400 bar) foi mais eficiente para obter extratos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) com elevado rendimento global de extração e elevada concentração de compostos fenólicos de interesse. A análise da atividade antioxidante mostrou que a utilização de uma etapa sequencial utilizando etanol a 60 °C e 400 bar como

solvente permitiu obter extratos que apresentam elevada atividade antioxidante, o que poderia ser associado à presença de compostos fenólicos.

Ainda dentro do processo de extração supercrítica sequencial, pode-se adicionar uma etapa de despressurização rápida do sistema, entre duas etapas de extração supercrítica (sequenciais). Estudos prévios de extração supercrítica com etapas de descompressão do CO₂ relataram melhores rendimentos (SMITH JR et al., 2003; PEREIRA, 2002; SETIANTO, 2009; SANTOS; MEIRELES, 2011). A ESC-S de caju (*Anacardium occidentale*) com etapas intermediárias de despressurização de CO₂ durante a etapa de extração dinâmica gerou um aumento da produtividade e diminuição da quantidade de CO₂ necessária para a extração (SMITH JR et al., 2003).

A otimização do processo de extração por aplicação de uma rápida despressurização do CO₂ é atribuída aos efeitos de libertação de pressão na modificação da membrana celular devido à expansão rápida de gás, aumentando a disponibilidade de substâncias extraíveis no solvente (SMITH JR et al., 2003; SETIANTO, 2009). É observado que o trajeto percorrido pelos compostos é menor e a transferência de massa aumenta se o material, matriz, é triturado, e suas células destruídas. Isso porque a resistência do transporte pelas membranas diminui ou torna-se irrisório (BRUNNER, 1994).

2.4. MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática de dados experimentais de ESC tem como principal objetivo a determinação de parâmetros para *design* de processo, tais como dimensões de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula. A obtenção de tais parâmetros torna possível a predição de custos do processo em escala industrial, através de estudos de simulação das curvas de extração (MARTÍNEZ et al., 2003).

Um modelo matemático deve refletir a visão física da estrutura sólida e das observações experimentais. Dentre os modelos descritos na literatura, podem ser citados os modelos empíricos; modelos baseados na analogia à transferência de calor na partícula, como o de Crank (1975) e o de Gaspar et al., (2003); modelos baseados na equação diferencial de transferência de massa no leito, como o de Sovová (1994) e o de Martínez et al. (2003); modelos análogos à equação cinética de crescimento de microrganismos de Monod, como o modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) e modelos que descrevem o processo de extração pelo mecanismo de dessorção, como o proposto por Goto, Sato

e Hirose (1993). A partir da integração das equações diferenciais de balanço de massa, os perfis de concentração em função do tempo são obtidos para as fases fluida e sólida, sendo a curva de extração calculada a partir da concentração na fase fluida na saída do extrator (REVERCHON; DE MARCO, 2006; MEZZOMO, 2008; MICHIELIN, 2009).

A explicação detalhada sobre os modelos de transferência de massa citados encontra-se no Anexo A, que apresenta as equações de cada modelo, bem como as considerações para sua aplicação.

2.5. DETERMINAÇÃO DE CUSTOS

Para a realização de uma análise de viabilidade econômica de um processo, inicialmente é necessário determinar quais serão os custos associados com a operação do dia-a-dia da indústria (TURTON et al., 2009).

O custo de manufatura (COM) é o custo acumulado de todos os recursos que são utilizados para a fabricação de um produto, sendo expressos em unidades de dólar por unidade de tempo. O COM é uma função do que são chamados de custos diretos (que dependem diretamente da produção e suas quantidades) e indiretos, como os custos fixos (envolvendo a depreciação dos equipamentos, taxas e seguros) e ainda os custos gerais (dos quais fazem parte os custos administrativos dos diferentes setores, como o de vendas, pesquisa e desenvolvimento). A Equação 1 mostra essa relação.

- 1) Custos diretos de manufatura (DMC): Estes custos representam despesas operacionais, que variam com a taxa de produção. Quando a demanda do produto cai, a taxa de produção é reduzida para menos do que a capacidade de projeto. Trabalhando em ritmo menor, é esperada uma redução nos fatores que compõem os custos de fabricação diretos. Estas reduções podem ser diretamente proporcionais à taxa de produção, assim como para as matérias-primas, ou pode ser reduzido ligeiramente, sendo como exemplo custos de manutenção ou mão de obra operacional.
- 2) Custos fixos de manufatura (FMC): Estes custos são independentes das mudanças na taxa de produção. Eles incluem impostos sobre a propriedade, seguros e depreciação, que são cobradas a taxas constantes, mesmo quando a planta não está em operação.

- 3) Despesas gerais (GE): São os custos necessários para realizar funções de negócios. Eles incluem a gestão, vendas, financiamento e funções de pesquisa. As despesas gerais raramente variam de acordo com o nível de produção. No entanto, como a investigação e desenvolvimento e de distribuição e os custos de venda podem diminuir se ocorrerem longos períodos de baixos níveis de produção (TURTON et al., 2009).

$$COM = DMC + FMC + GE \quad (1)$$

O COM pode ser determinado quando os custos a seguir são conhecidos ou podem ser estimados: Capital fixo de investimento (FCI); Custo de trabalho operacional (COL); Custo de utilidades (CUT); Custo de tratamento de efluentes (CWT); Custo de matéria-prima (CRM) (TURTON et al., 2009).

Turton et al. (2009) apresenta as equações utilizadas para estimar a cada elemento individual. Com cada equação, uma faixa típica para as constantes (fatores de multiplicação) para estimar um item de custo individual é apresentada. Utilizando os valores médios das faixas de cada constante, as Equações 2, 3 e 4, para cada tipo de custo, são as seguintes:

$$DMC = CRM + CWT + CUT + 1,33COL + 0,069FCI + 0,03COM \quad (2)$$

$$FMC = 0,708.COL + 0,068.FCI + DEPRECIAC\tilde{A}O \quad (3)$$

$$GE = 0,177.COL + 0,009.FCI + 0,16.COM \quad (4)$$

Pode-se obter o custo total de manufatura através da soma dessas três categorias de custo e resolvendo a equação em termos de COM, obtendo finalmente a Equação 5:

$$COM = 0,280.FCI + 2,73.COL + 1,23.(CUT + CWT + CRM) \quad (5)$$

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A torta de semente de chia (Figura 4), resíduo do processo de extração de óleo através de prensagem a frio, foi fornecida pela Pазze Indústria de Alimentos Ltda, situada em Panambi, Rio Grande do Sul, Brasil. A amostra, embalada pelo fornecedor, foi recebida no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica e então separada em pequenas porções, em sacos de polietileno, protegidos da luz através de uma camada de papel alumínio e armazenados em *freezer* doméstico (Consul, cvu 300, Brasil) a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 4: Torta de semente de chia



3.2. PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA

A torta de chia foi moída em moinho de facas (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) e novamente acondicionada em embalagem plástica protegida da luz em *freezer* a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Não foi necessária a realização de uma etapa de secagem devido ao baixo teor de umidade da amostra (conforme descrito nos resultados - item 4.1.1.).

3.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS

O teor de umidade e de substâncias voláteis para a torta de chia foi determinado conforme o método 925.09 da AOAC (2005), baseando-se na perda de umidade e substâncias voláteis da amostra submetida a 105 °C.

Foram medidos 5 g de amostra em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil), colocadas em cápsulas de alumínio taradas, as quais foram previamente aquecidas a 105 °C durante 1 h em estufa (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) e resfriadas até a temperatura ambiente em dessecador. As amostras permaneceram durante 3 h em estufa a 105 °C, foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e as massas medidas novamente. Repetiram-se essas operações de aquecimento e resfriamento em intervalos de meia hora, até massa constante. Para o cálculo do teor de umidade e compostos voláteis utiliza-se a Equação 6:

$$\text{Teor de umidade e voláteis (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (6)$$

Onde m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra (g). O ensaio foi realizado em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

3.4. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ

O ensaio de índice de acidez foi realizado em triplicata de acordo com o método Cd 3d-63 da AOCS (2003) com objetivo de verificar se o extrato oleoso obtido da torta de chia está em condições adequadas para sua utilização nas análises realizadas neste trabalho. O óleo para análise foi obtido, de acordo com Salvador (2014), através de extração por maceração com hexano, utilizando 100 g de amostra e 500 mL de solvente armazenados em frasco âmbar durante 7 d sob agitação uma vez ao dia.

O óleo foi submetido à titulação com NaOH 0,01 N e seu índice de acidez foi determinado em mg KOH/g de óleo.

3.5. CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS DA EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

3.5.1. Determinação do diâmetro médio de partículas

O perfil granulométrico das partículas foi determinado por ensaio em agitador de peneiras (Bertel Metalurgic Ind. Ltda., Caieiras/SP, Brasil) durante 60 min com peneiras de 6, 16, 20, 25 e 32 mesh (série Tyler, W.S. Tyler, Wheeling, EUA), em duplicata. A massa das frações retidas em cada peneira foi medida e o diâmetro médio de partículas foi calculado de acordo com as Equações 7 e 8, propostas por Gomide (1983).

$$D_p = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{x_i}{D_{pi}}}{\sum_{i=1}^n \frac{x_i}{D_{pi}^3}}} \quad (7)$$

$$x_i = \frac{m_i}{m} \quad (8)$$

Onde:

D_p = diâmetro médio superficial das partículas;

D_{pi} = diâmetro médio da peneira i ;

M_i = massa de amostras retidas na peneira i ;

m = massa total nas peneiras;

n = número total de frações.

O diâmetro médio de partícula foi expresso pela média \pm desvio padrão, em milímetro (mm).

3.5.2. Determinação da massa específica aparente do leito de ESC (ρ_a)

A massa específica aparente do leito de partículas foi determinada através da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações e o volume ocupado no leito de extração supercrítica.

3.5.3. Determinação da massa específica real das partículas (ρ_r)

A massa específica real foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATEC) utilizando-se a técnica de picnometria em gás Hélio, (Accu Pyc II 1340 da Micromeritics). A utilização dessa técnica em geral apresenta bons resultados, pelo fato de que o gás Hélio, devido a sua baixa tensão superficial, penetra nos poros da matriz vegetal sem alterar as características das partículas.

3.5.4. Porosidade do leito de ESC

Conhecendo os valores de massa específica real e aparente, a porosidade do leito de ESC pode ser determinada através da Equação 9:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (9)$$

3.6. DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DO CO₂ SUPERCRTÍCO

A massa específica do CO₂ supercrítico (ρ) nas condições de operação planejadas foi determinada utilizando a equação de Angus, Armstrong e De Reuck (1976), baseada em dados experimentais, através de uma planilha eletrônica de cálculo. Este valor foi aplicado na avaliação da influência da temperatura e pressão na variação da massa específica do solvente e também na aplicação do modelo de transferência de massa descrito por Sovová (1994).

3.7. DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO EXTRATO DE CHIA EM SC-CO₂

Para a aplicação do modelo de transferência de massa de Sovová (1994), é fundamental que se conheça a solubilidade do extrato no solvente supercrítico. A solubilidade é definida como a máxima concentração de soluto dissolvido na fase solvente, na saída do extrator, para uma dada condição de temperatura e pressão de operação. Neste trabalho, foi considerada a solubilidade do óleo de semente de linhaça (*Linum usitatissimum*) em SC-CO₂ a 200 bar e 50 °C, determinada por Bozan e Temelli (2002), visto que não foram encontrados dados na

literatura para a solubilidade do óleo de chia nestas condições. A composição do óleo de chia e óleo de linhaça é bastante similar. O ácido α -linolênico representa de 55% a 60% do total de ácidos graxos presentes no óleo de linhaça (BOZAN; TEMELLI, 2002). Segundo Ali et al. (2012), o óleo de chia apresenta teor de 60% de ácido α -linolênico, se assemelhando em composição majoritária ao óleo de linhaça.

3.8. EXTRAÇÕES A BAIXA PRESSÃO

Os processos de extração a baixa pressão utilizando diferentes solventes orgânicos foram realizados a fim de compará-los com o processo de extração supercrítica, em termos de rendimento dos extratos, atividade biológica, atividade antioxidante e composição de ácidos graxos. As extrações a baixa pressão também foram realizadas com objetivo de selecionar um cossolvente para utilização em extração supercrítica, considerando os solventes que apresentaram melhores resultados em termos de atividade antioxidante, teor de fenólicos totais e rendimento.

Os solventes utilizados nos ensaios de extração a baixa pressão foram hexano (P.A.), acetato de etila (P.A.) e etanol (P.A.) (Synth, Diadema/SP, Brasil), cujos índices de polaridade são 0, 4,4 e 5,2 respectivamente. Os extratos obtidos após a extração através de maceração, ultrassom e em Soxhlet passaram por processo de eliminação de solvente, em rotaevaporador (Mod. 801 e 802, Fisatom, São Paulo/SP, Brasil) com arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC, Brasil) e controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica, Piracicaba/SP, Brasil). As temperaturas de evaporação foram ajustadas para valores inferiores aos pontos de ebulição dos solventes utilizados, a fim de evitar alterações do extrato devido à aplicação de calor, e o vácuo ajustado em 650 mmHg. Os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e armazenados em *freezer* à -18°C. As extrações foram realizadas em duplicata.

3.8.1. Extração em Soxhlet

A obtenção de extratos em Soxhlet foi realizada de acordo com o método 920.39C da AOAC (2005). Brevemente, 5g de torta de chia moída foram acondicionados em cartucho de papel filtro e inseridos no extrator. Foram utilizados 150 mL do solvente selecionado, aquecido até

sua temperatura de ebulição. O processo de extração teve duração de 6 horas.

A estrutura é composta de manta de aquecimento (Fisatom 102E, São Paulo/SP, Brasil), balão de fundo redondo com solvente, aparato Soxhlet, cartucho de papel filtro com amostra, condensador e banho termostático (Micro Química, MQBMP-01, Brasil). A Figura 5 apresenta o aparato utilizado para extração de torta de chia em Soxhlet.

Figura 5: Extração de torta de chia em Soxhlet



3.8.2. Extração através de maceração

De acordo com técnica adaptada de Cunha et al. (2004), 25 g de torta de chia foram mantidos em contato com 100 mL de solvente, em frasco âmbar, durante 5 dias, sob agitação diária, uma vez ao dia, ao abrigo da luz. Ao fim do período de extração, o sistema foi filtrado para separação da amostra da solução com extrato.

3.8.3. Extração com ultrassom

A técnica foi adaptada de Vinatoru (2001), onde 5 g de torta de chia permaneceram em contato com 150 mL de solvente em balão de fundo chato, imersos em banho indireto em ultrassom (Unique, Ultra Cleaner 700, Brasil), com frequência de 55 kHz, dimensões internas

10x10x5 cm, e um condensador acoplado a banho termostático (Micro Química, MQBMP-01, Brasil), por 1 h. As extrações foram realizadas em duplicata.

Ao final da extração, o sistema foi filtrado para separação da amostra sólida da solução com extrato.

3.9. EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

Os experimentos de extração supercrítica (ESC) foram realizados no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da UFSC, em uma unidade de extração que opera até uma pressão máxima de 300 bar e vazões de solvente de 1,67 g/min a 36,67 g/min.

Foram realizados experimentos de determinação do rendimento global de extração, com o emprego de dióxido de carbono 99,9 % (White Martins, Brasil) e também com auxílio de cossolvente, além de experimentos de obtenção de curvas cinéticas de extração, necessárias para a determinação do tempo ideal de extração e comparação com modelos matemáticos. Neste trabalho, o dióxido de carbono 99,9 % é chamado de “CO₂ puro”.

O método dinâmico de extração supercrítica foi empregado nos experimentos cinéticos e na determinação do rendimento global de extração. O método dinâmico é caracterizado pela passagem contínua do solvente supercrítico pela matriz sólida (FERREIRA et al., 1999).

Os ensaios de extração supercrítica foram realizados em diferentes condições de pressão e temperatura, com objetivo de avaliar a influência destas no rendimento global de extração. Na melhor condição de operação, em termos de atividade antioxidante, foi testado o uso do cossolvente, sendo esse escolhido com base nos resultados de rendimentos obtidos nas extrações convencionais.

Os experimentos de rendimento global foram efetuados em duplicata e os extratos obtidos nestas operações foram empregados para as análises de atividade biológica e atividade antimicrobiana, bem como na determinação do perfil de ácidos graxos dos referidos extratos.

3.9.1. Determinação do rendimento global de extração

O rendimento global de extração (X_0) é a quantidade de óleo extraível presente na matriz sólida, referente a uma dada condição de extração. O rendimento das ESC e também das extrações a baixa

pressão foram calculados através da razão entre a massa de extrato obtida e a massa de matéria-prima utilizada na extração.

A verificação do efeito da pressão e da temperatura no rendimento global da ESC foi avaliada utilizando-se como condições de operação as pressões de 150, 200, 250 e 300 bar, temperaturas de 40 °C e 50 °C, vazão fixa de solvente ($8,3 \pm 2$ g/min) e tempo de extração determinado através do ensaio cinético, descrito no item 3.9.2. Para a extração de compostos fenólicos são utilizadas pressões entre 150 e 400 bar e temperaturas de 40 a 60 °C (MEIRELES, 2009). O limite de pressão de operação do equipamento utilizado é de 300 bar. A partir destas informações, justifica-se a seleção das condições de pressão e temperatura utilizadas neste estudo.

Foram utilizados 15 g de amostra para o preenchimento do leito de extração. As extremidades da coluna foram revestidas com algodão para evitar a entrada de partículas sólidas na linha de extração e o espaço restante da coluna de ESC, precedente ao leito de partículas, foi preenchido com esferas de vidro.

A Tabela 2 apresenta um plano de ensaios de extração supercrítica para a determinação do rendimento global.

Tabela 2: Plano de ensaios de extração supercrítica para a determinação do rendimento global (X_0)

Temperatura (°C)	Pressão (bar)
40	150
40	200
40	250
40	300
50	150
50	200
50	250
50	300

3.9.2. Experimentos cinéticos

O ensaio cinético foi realizado a 200 bar e a 50 °C, com objetivo de determinar o tempo ideal de extração e avaliar seu comportamento cinético. Foram utilizados 15 g de amostra, medidos em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil). Esta quantidade de matéria-prima foi empregada visando se obter um leito de partículas com altura de pelo menos o dobro do diâmetro do extrator. Com esta relação entre altura e diâmetro do leito, considera-se que a dispersão axial pode ser desprezada. Os frascos de coleta de extrato foram previamente pesados em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil). A coleta do extrato foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados.

Foi também realizado um experimento cinético na condição de 150 bar e 40 °C com objetivo de determinar o tempo de extração de cada etapa da ESC-S. Além disso também foi construída uma curva cinética da ESC-S nas condições de 150 bar e 40 °C (1ª etapa) e 200 bar e 40 °C (2ª etapa) para a observação da cinética de transferência de massa do processo.

As curvas cinéticas de extração foram construídas através da obtenção da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração. O ensaio ocorreu até o momento em que obteve-se massa acumulada de extrato constante, o que caracteriza a etapa difusional da extração.

Os tempos de cada um dos períodos de extração foram calculados a partir das curvas de extração. Os tempos t_{CER} e t_{FER} representam o final das etapas constante e decrescente de extração. O tempo de extração das três etapas de extração, bem como a taxa de transferência de massa na etapa CER (M_{CER}) foram obtidos a partir do ajuste linear da curva de extração nos períodos CER, FER e difusional, em planilha eletrônica. A concentração de soluto na fase solvente na etapa CER (Y_{CER}) foi determinada pela razão entre M_{CER} e Q_{CO_2} . Da mesma forma, estes parâmetros foram obtidos para as etapas FER e difusional.

3.9.3. Emprego de cossolvente

Para a adição de cossolvente junto à extração supercrítica, uma bomba de cossolvente (Constametric 3200, SP Thermo Separation

Products, USA) foi acoplada ao equipamento de extração supercrítica, que trabalha em vazões de 0,1 até 10 mL/min. Os solventes etanol (P.A.) e acetato de etila (P.A.) foram utilizados em concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 % (m/m), respeitando as restrições de trabalho da bomba de cossolvente. Os experimentos com cossolvente foram realizados na condição de 200 bar, 40 °C, vazão de CO₂ de $8,33 \pm 2$ g/min e 210 min de extração, a fim de se avaliar a sua influência no rendimento.

Os solventes e a condição de pressão e temperatura foram selecionados com base nos resultados de atividade antioxidante e rendimento das extrações a baixa pressão e ESC (resultados apresentados nos itens 4.4., 4.6.1. e 4.6.2.). A quantidade de cossolvente foi definida em relação à massa total de CO₂ utilizada na extração supercrítica.

Este ensaio foi realizado com objetivo de selecionar o cossolvente e a sua concentração ideal para sua aplicação na segunda etapa da extração supercrítica sequencial (ESC-S).

3.9.4. Extração supercrítica sequencial (ESC-S)

A extração supercrítica sequencial foi realizada em duas etapas, com objetivo de extrair na primeira etapa preferencialmente ácidos graxos, concentrando os compostos fenólicos para extração na segunda etapa. A primeira etapa foi realizada na condição de 150 bar e 40°C. Essa condição foi selecionada pois compostos fenólicos, que devem ser extraídos somente na segunda etapa, possuem baixa solubilidade em baixas pressões (MURGA et al., 2003). Quando comparadas na mesma condição de pressão e temperatura, a solubilidade de ácidos graxos em SC-CO₂ é maior do que a solubilidade de compostos fenólicos (MURGA et al., 2003; MAHESHWARI et al., 1992). Por exemplo, a solubilidade do ácido caféico na condição de 150 bar e 40 °C é de $0,0008 \cdot 10^{-6}$ mol/mol CO₂, já a solubilidade do ácido oleico a aproximadamente 150 bar e 40 °C é de $724 \cdot 10^{-6}$ mol/mol CO₂ (GUPTA; SHIM, 2007; CHRASTIL, 1982; MURGA et al., 2003). Desta forma, a primeira etapa, realizada em uma pressão mais baixa, deverá extrair preferencialmente ácidos graxos, fazendo com que compostos fenólicos sejam melhor extraídos na segunda etapa. A segunda etapa ocorreu na condição de 200 bar e 40 °C em presença de CO₂ puro e CO₂ com etanol na concentração de 7,5 % (cossolvente e concentração selecionados de acordo com os resultados apresentados no itens 4.5., 4.6.1. e 4.6.2.). O

tempo de cada etapa foi determinado através da curva cinética (resultados e comentários apresentados no item 4.3.).

Entre a primeira e a segunda etapa de extração foi realizada uma depressurização rápida do sistema, com objetivo de se atingir um alto rendimento de extração em um tempo reduzido, além de observar possíveis mudanças na cinética de extração, ocasionadas por essa depressurização.

3.10. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.10.1. Método ABTS

A atividade antioxidante dos extratos de torta de chia foi avaliada de acordo com a metodologia proposta por Re et al. (1999). Utilizou-se o Trolox, vitamina E sintética (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, EUA) como antioxidante referência. O radical ABTS foi dissolvido em água até a concentração de 7,0 mM, e submetido à reação com 2,45 mM de persulfato de potássio para a formação do radical em solução de proporção 1:1. A solução foi armazenada no escuro em refrigerador doméstico por 16 horas antes do uso. A solução do radical ABTS^{•+} foi diluída em etanol até uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 754 nm. Após a adição da solução de ABTS na amostra, a reação ocorreu durante 6 minutos, sob proteção da luz. As leituras foram feitas em espectrofotômetro, e a partir destas a porcentagem de inibição do radical foi calculada através da Equação 10:

$$\% \text{ de inibição} = 1 - \left[\frac{abs_f}{abs_0} \right] \cdot 100 \quad (10)$$

O termo abs_f é a absorbância do radical ABTS adicionado a amostra após um tempo de reação de 6 min, e abs_0 é a absorbância do radical.

A curva padrão do antioxidante comercial Trolox foi plotada em função da porcentagem de inibição do radical ABTS pelas diferentes concentrações de Trolox ($\mu\text{M/mL}$). Desta forma, através da obtenção da porcentagem de inibição do extrato analisado, é possível calcular a atividade antioxidante (AA) deste através da Equação 11 com base na curva padrão de Trolox. A curva padrão de Trolox é apresentada no Anexo B.

$$AA = \left[\frac{C_a}{C_e} \right] \quad (11)$$

Onde: C_a é a concentração ($\mu\text{M}/\text{mL}$) referente ao percentual de inibição obtido através das leituras espectrofotométricas do extrato; C_e é a concentração do extrato utilizada na técnica.

Desta forma, os resultados foram expressos em μM TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) por g de extrato. A concentração de extrato tomada foi a de $500 \mu\text{g}/\text{mL}$. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em μmol TEAC/g (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) por g de extrato, como média \pm desvio padrão.

3.11. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos de torta de chia foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu (ROSSI; SINGLETON, 1965; PESCHEL et al., 2006).

Os extratos avaliados foram diluídos em álcool etílico absoluto P.A. na concentração final de $1667 \text{ mg}/\text{L}$. A reação de oxidação foi realizada em balões volumétricos de 10 mL , sendo transferido para estes $10 \mu\text{L}$ de amostra, sendo em seguida adicionados 2 mL de água destilada e $0,5 \text{ mL}$ do reativo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA). Após 30 s e antes de 8 min após a adição do reativo, foi adicionado $1,5 \text{ mL}$ de solução aquosa de carbonato de sódio (Nuclear, CAQ Ind. e Com. Ltda., Brasil) a 20% (m/v). Os balões foram então completados com água destilada até a marca de 10 mL , agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e temperatura ambiente por 120 min para que a reação ocorresse.

A absorbância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (Femto, 800XI, Brasil). O branco realizado com todos os reagentes, substituindo-se a amostra por água destilada também foi lido.

Os valores de absorbância encontrados para cada tipo de extrato foram correlacionados com uma curva padrão de ácido clorogênico. Esta substância foi escolhida como padrão pois é um dos compostos fenólicos presentes na chia. O teor de compostos fenólicos totais (TFT) foi determinado através da Equação 12. Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos em mg de EAC/g de extrato, como média \pm desvio padrão.

A curva analítica de ácido clorogênico é apresentada através do gráfico de absorvância *versus* concentração de ácido clorogênico, no Anexo B.

$$\text{Teor de fenólicos} \left(\frac{\text{mg EAC}}{\text{g ext}} \right) = \frac{[\text{EAC}]}{D_{\text{ext}}} \quad (12)$$

Onde EAC é o equivalente em ácido clorogênico obtido da curva ($\text{mg}_{\text{EAC}}/\text{L}$), D: diluição das amostras ($\text{g}_{\text{extrato}}/\text{L}$).

A análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso em $\text{mg}_{\text{EAC}}/\text{g}$ de extrato, como média \pm desvio padrão.

3.12. DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa (CG) no Laboratório de Óleos e Gorduras no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os extratos foram metilados em duplicata com base no método descrito por O' Fallon et al. (2010), com modificações. Foram utilizados 100 μL de óleo, ao qual foram adicionados 0,7 mL de solução KOH 10 M e 5,3 mL de metanol. Após agitação em vortex os tubos de ensaios foram incubados em banho-maria a 55 °C por 90 min. Posteriormente, adicionou-se 580 μL de solução ácido sulfúrico 12 M e os tubos foram novamente agitados e incubados em banho-maria a 55 °C por 90 min. Por fim adicionou-se 3 mL de hexano e centrifugou-se a mistura para retirar o sobrenadante.

O sobrenadante foi injetado no cromatógrafo a gás (GC 2010, Shimadzu, 2010, Brasil) equipado com injetor *split* (razão do Split 1:40), segundo metodologia AOCS (2003) para composição em ácidos graxos, (Ce 1-62). Condições de análise: coluna capilar HP 88, dimensões 100 m, \varnothing int: 0,25 mm, 0.20 μm filme; split = 1:150; fluxo da coluna = 0,92 mL/min.; temperatura do detector: 260 °C; temperatura do injetor: 150 °C; temperatura do forno: 140 °C – 6 min, 140 °C – 240 °C (4 °C/min), 240 °C – 6 min; gás auxiliar (*make up* gás): nitrogênio; gás de arraste: hélio; volume injetado: 1,0 μL . As análises foram feitas em duplicata e utilizou-se o padrão Nu-Chek-Prep 20 A.

Os ácidos graxos foram identificados de acordo com o tempo de retenção e a quantidade foi determinada de acordo com a área do pico integrada no software CG Solution. Através do método de normalização obteve-se a percentagem relativa de ácido em relação à área total dos ácidos graxos (VISENTAINER; FRANCO, 2006).

Analisaram-se os extratos obtidos através de técnicas a baixa pressão utilizando hexano como solvente, ESC utilizando CO₂ puro e com cossolvente em concentração 7,5 %, ESC-S e um extrato obtido em Soxhlet com etanol. Estes extratos foram selecionados pois foram obtidos em condições que favorecem preferencialmente a extração de compostos lipídicos. Os resultados foram expressos em percentagem relativa de cada ácido graxo, como média ± desvio padrão.

3.13. ANÁLISE DE ESTIMATIVA DE CUSTOS

A estimativa de custos de produção de extrato de torta de chia em uma unidade industrial de ESC foi realizada através da metodologia proposta por Rosa e Meireles (2005). O custo de manufatura (COM) foi calculado utilizando a Equação 13, proposta por Turton et al. (2009).

$$COM = 0,280.FCI + 2,73.COL + 1,23.(CUT + CWT + CRM) \quad (13)$$

Onde: COM é o custo de fabricação, FCI é a fração do investimento, COL é o custo do trabalho operacional, a CUT é o custo de utilidades, a CWT é o custo de tratamento de resíduos, e CRM é o custo da matéria-prima.

A unidade de extração industrial proposta para a estimativa da COM é composta de duas colunas de extração de 500 L; seu custo é de cerca de US\$ 1.150.000,00 no mercado chinês (PRADO, 2009). O tempo total de funcionamento da coluna de extração foi considerado como 7920 h por ano, o que corresponde a 330 dias por ano de funcionamento contínuo, 24 h por dia. A unidade de ESC deve ser instalada dentro da própria fábrica de processamento de chia.

Uma taxa de depreciação de 10 % ao ano foi utilizada no cálculo da COM. O custo do trabalho operacional foi considerado US\$ 3,80/h (ZIBETTI et al., 2013). Como a torta de chia é um resíduo do processo de produção de óleo de chia por prensagem a frio, não há custo na sua aquisição. Com relação ao custo de transporte da matéria-prima, este também é nulo, visto que a unidade de extração supercrítica deve ser instalada no interior da fábrica processadora de chia. O custo com tratamento de resíduos é considerado nulo, visto que em um processo de ESC o único resíduo gerado é o sólido exaurido. No caso da torta de chia, o resíduo ainda pode ser utilizado como matéria-prima desengordurada em outros processos, como produção de ração animal ou produção de farinha. O custo de pré-tratamento com moagem pode ser estimado através do software de simulação de processos SuperPro

Design Software (Versão Demo) como US\$ 17,00 por tonelada de matéria-prima. Foi considerado que 2 % (ROSA, MEIRELLES, 2005) do total de CO₂ usado durante a extração é perdido ou dissolvido no extrato após a separação *flash*. As condições de extração são de 200 bar e 40 °C. O preço do CO₂ utilizado foi de US\$ 0,15/kg de CO₂ (ZIBETTI et al., 2013). Considera-se que o tanque de separação *flash* opera a 40 bar. Nesta condição, considera-se que todo o extrato está na fase líquida (precipitado). A etapa de separação *flash* é onde ocorre a separação da mistura CO₂ e extrato. O extrato precipita e o CO₂ na fase gasosa segue para um condensador.

No cálculo de utilidades para a extração supercrítica, de acordo com Rosa e Meireles (2005), considera-se que: o tanque de separação *flash* é aquecido por vapor saturado a 0,5 Mpa; o condensador utiliza água fria para refrigeração; a energia elétrica utilizada na bomba é calculada considerando a variação de entalpia isentrópica assumindo 60% de eficiência; o aquecedor CO₂ também usa 0,5 MPa vapor saturado. O custo dessas utilidades são: US\$ 0,0133/Mcal para o vapor saturado (SuperPro Design, Demo Version), US\$ 0,0837/Mcal para a água fria (SuperPro Design, Demo Version), e US\$ 0,1949/Mcal de energia elétrica (valor cobrado em Santa Catarina – Brasil) (ZIBETTI, 2013).

A vazão de CO₂ utilizada no processo foi determinada através da utilização de um critério de aumento de escala. Neste caso, optou-se por manter constante a razão m/Q_{CO_2} , onde m é a massa de matéria-prima utilizada e Q_{CO_2} é a vazão de solvente supercrítico.

Para a realização da estimativa do custo de manufatura, foi desenvolvida a Calculesc, uma planilha de cálculo capaz de calcular todos os custos envolvidos (FCI, CUT, CWT, CRM e COL) a partir dos dados de entrada citados neste tópico.

3.14. MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática das curvas de extração (massa de extrato acumulada *versus* tempo de extração) foi realizada utilizando os modelos de Sovová (1994), de Martínez et al. (2003), de Esquivel, Bernardo-Gil e King (1999) e de Gaspar et al. (2003), aplicados através do *software* Mass Transfer, desenvolvido por Correia, Michielin e Ferreira (2006), que utiliza o método da máxima verossimilhança para minimizar a soma dos quadrados dos desvios calculados (KITZBERGER et al., 2009). As equações dos modelos matemáticos aplicados encontram-se descritas no Anexo A.

Os parâmetros necessários para aplicação dos modelos foram determinados experimentalmente, calculados através de dados experimentais ou obtidos da literatura.

3.15. DETERMINAÇÃO ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

3.15.1. Difusão em ágar

A atividade antimicrobiana dos extratos de torta de chia foi avaliada para as bactérias *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Bacillus cereus* ATCC 11778. Estas espécies foram selecionadas por se tratarem de uma espécie Gram-positiva e uma Gram-negativa, sendo o *Bacillus cereus* uma espécie causadora de doenças transmitidas por alimentos (chamadas DTAs) de ocorrência frequente, e a *E. coli*, um microrganismo geralmente multirresistente aos compostos antimicrobianos (VIEIRA, 2005). Os ensaios de difusão em ágar foram realizados no Laboratório de Bioprocessos, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFSC.

No método de difusão em gel, uma suspensão bacteriana de cada espécie contendo 10^8 UFC/mL foi semeada em placa com meio ágar Müller-Hinton com auxílio de “swab” estéril. 50 μ L de solução de extrato de concentração 200 mg/mL DMSO (dimetilsulfóxido) a 60 % foram aplicados diretamente em orifícios de 7 mm de diâmetro feitos no ágar. Foram feitos 8 furos em cada placa de Petri, com auxílio de um furador de aço estéril, onde foram testados quatro extratos, em duplicata. A solução de DMSO a 60 % não oferece nenhuma inibição aos microrganismos testados de acordo com testes preliminares (item 4.6.4.).

Os sistemas foram incubados por 24 h a 36 °C, em estufa bacteriológica e em condições aeróbias. Após a incubação, nos casos em que foi verificada inibição do crescimento, o diâmetro do halo foi medido em milímetros, sendo que halos com tamanho acima de 9 mm são considerados resultados positivos (VALGAS et al., 2007; SMÂNIA et al., 1995, MICHIELIN et al., 2009).

3.15.2. Determinação da concentração mínima inibitória

A atividade antimicrobiana também foi avaliada através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI). As análises de

determinação da concentração mínima inibitória foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFSC.

A CMI foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, conforme a metodologia descrita por Ávila et al. (2008). Os extratos testados (75 mg) foram dissolvidos em 150 μL de DMSO, previamente esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Posteriormente, foram preparadas diluições seriadas dos extratos neste mesmo solvente e distribuídos 10 μL em orifícios distintos de uma placa de microdiluição de 96 poços. Em cada orifício-teste ainda foi adicionado 85 μL de caldo de Müeller-Hinton. Como controles de crescimento e esterilidade foram usados apenas as misturas do meio de cultura e DMSO sem a adição de extrato. Nos orifícios-teste e de controle de crescimento foram adicionados 5 μL de inóculo bacteriano, o qual consistiu de uma suspensão contendo aproximadamente 10^8 UFC/mL de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Os experimentos foram desenvolvidos em duplicata e as placas foram incubadas por 24 h a 36 °C. Para a leitura dos resultados foi utilizada uma solução reveladora de crescimento bacteriano (cloreto de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolium) (INT), pois a turvação e a coloração do extrato interferem na leitura da densidade óptica. A CMI foi considerada a menor concentração do extrato que inibiu o crescimento bacteriano, sendo os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

4.1.1. Teor de umidade e substâncias voláteis

A torta de chia apresentou teor de umidade e substâncias voláteis de $5,81 \pm 0,04$ %. Para semente inteira de chia, Ixtaína, Nolasco e Tomás (2008) obtiveram um valor de umidade e substâncias voláteis de $6,5 \pm 0,4$ %. Essa diferença é compreensível, visto que a torta de chia é um produto que já passou por um processo de prensagem, no qual provavelmente ocasionou a extração de uma pequena quantidade de água, juntamente com o óleo, tornando o resultado do presente trabalho (torta de chia) inferior ao obtido na literatura para a semente de chia. Além disso, as diferenças entre o valor encontrado neste trabalho e o apresentado na literatura pode estar relacionada às diferenças de cultivar, local e época de cultivo e colheita (ABEROUMAND; DEOKULE, 2008).

Um elevado teor de umidade da matéria-prima geralmente provoca um menor rendimento de extração, comparando com amostras secas do mesmo produto, pois a água em excesso age como um solvente para algumas substâncias, competindo com o CO_2 supercrítico e diminuindo a recuperação do extrato (POURMORTAZAVI, HAJIMIRSADEGHI, 2007).

Além disso, a umidade pode ocasionar também compactação do leito de extração supercrítica e formação de caminhos preferenciais no fluxo do solvente (CASAS, 2007). Estudos indicam um teor de água entre 3 e 10% não tem impacto significativo na transferência de massa de óleos comestíveis de sementes (PEREDA, BOTTINI e BRIGNOLE, 2008).

4.1.2. Teor de lipídios

O teor de lipídios da torta de chia foi determinado através de extração em Soxhlet com hexano, conforme o item 3.8.1. O valor obtido para a torta de chia foi de $13,78 \pm 0,22$ %, enquanto para sementes inteiras de chia, Coelho e Salas-Mellado (2014) obtiveram teor de lipídios de $32,4 \pm 0,2$ %.

A grande diferença dos teores de lipídios obtidos para torta de chia e para semente inteira de chia é justificada pelo fato que a torta de

chia é o resíduo sólido do processo de obtenção de óleo através de prensagem a frio. Portanto, seu teor de óleo será menor do que o teor de óleo da semente de chia. Além disso, o teor de lipídios se altera dependendo da espécie, local da plantação, ano de produção, conteúdo de fertilizantes e tempo de colheita (SANTERRE, 1994). Até mesmo materiais da mesma espécie de planta podem apresentar diferenças de colheita a colheita, de acordo com as condições e tratamentos pós-colheita, de acordo com a idade e do tratamento pré-extração (BRUNNER, 1994).

4.1.3. Índice de acidez

Segundo o Instituto Adolfo Lutz (1985), definir o índice de acidez do óleo é importante para a determinação do estado de conservação de um produto alimentício. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. Quando o oxigênio atmosférico reage com as cadeias de ácidos graxos livres poliinsaturados ocorre a oxidação do óleo. Desta forma, os ácidos graxos livres são substratos para a reação de oxidação, e portanto um elevado índice de acidez mostra que o óleo não está em condições adequadas de consumo.

O óleo da torta de chia, obtido através de maceração em hexano, apresentou índice de acidez de $2,8 \pm 0,1$ mg KOH/g amostra. Não há legislação específica para o óleo de chia, portanto, o índice de acidez obtido foi comparado com a legislação do Codex Alimentarius (1999) para óleos de fontes vegetais, entre os quais estão inclusos óleo de colza e óleo de semente de mostarda, que apresentam teores de alguns ácidos graxos similares aos do óleo de chia. O índice de acidez da torta de chia foi inferior a 4,0 mg KOH/g de óleo, valor dado como limite máximo do índice de acidez para óleos vegetais virgens ou prensados a frio, com exceção do azeite de oliva.

Portanto, pode-se constatar que o óleo obtido da torta de chia está adequado para a utilização nos ensaios realizados neste trabalho.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS DE ESC

A caracterização do leito de partículas utilizado na ESC é fundamental para a compreensão dos fenômenos de transferência de massa que ocorrem durante o processo de extração, através da realização de modelagem matemática. A Tabela 3 apresenta os valores de diâmetro

de partícula (mm), massa específica real (g/cm^3), massa específica aparente (g/cm^3) e porosidade. O diâmetro médio de partículas foi determinado a partir do ensaio granulométrico em agitador de peneiras e calculado através das Equações 7 e 8.

Tabela 3: Caracterização do leito de partículas (torta de chia) de extração supercrítica

Diâmetro de partícula (mm)	Massa específica real (g/cm^3)	Massa específica aparente (g/cm^3)	Porosidade
0,55 ± 0,04	1,493 ± 0,002	0,47 ± 0,01	0,685

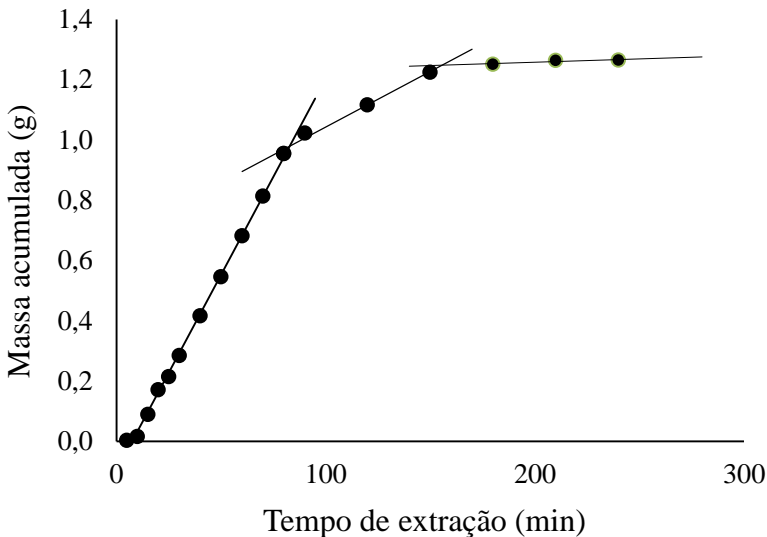
4.3. ENSAIOS CINÉTICOS DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

A realização de um ensaio cinético de extração supercrítica permite a identificação das etapas de extração e a definição dos parâmetros que levam às melhores condições operacionais para a obtenção de extratos de torta de chia.

Um ensaio cinético de ESC foi realizado em condições intermediárias àquelas que foram utilizadas para os ensaios de rendimento, com objetivo de observar através da curva cinética qual o tempo de extração ideal, a fim de se obter o maior rendimento possível. Este primeiro ensaio cinético foi realizado nas condições de 50 °C, 200 bar, e 8,3 g/min de vazão de CO₂. Nestas condições de pressão e temperatura a densidade do SC-CO₂ é de 0,785 g/cm³. A Figura 6 apresenta a curva cinética de ESC a 200 bar e 50 °C. Como citado no item 2.3.4.2., a curva cinética de ESC é composta pelas etapas de taxa de extração constante (CER), taxa de extração decrescente (FER) e etapa difusional. Na etapa CER o processo é caracterizado pela transferência de massa por convecção entre a superfície do sólido e o solvente. Na etapa FER além do fenômeno de convecção do soluto restante na superfície há também a difusão do soluto do interior para fora da matriz. Na etapa difusional a transferência de massa é majoritariamente controlada pela difusão.

As etapas de extração, bem como o tempo de duração de cada uma foram determinadas através de ajuste linear dos dados experimentais em planilha eletrônica.

Figura 6: Curva cinética de extração supercrítica de torta de chia a 200 bar e 50 °C



O tempo de duração de cada etapa da curva cinética de 200 bar e 50 °C, assim como outros parâmetros necessários para a etapa de modelagem matemática (item 4.9.) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Parâmetros cinéticos da curva de extração supercrítica a 200 bar e 50 °C, utilizados na modelagem matemática da curva

	CER	FER	Difusional
t (min)	0 - 80	80-150	>150
m_{ext} (g)	0,9553	0,2698	0,0397
X₀ (%)	6,3686	1,7987	0,2647
M (g/min)	0,0119	0,0036	0,0004
Y (g/g)	0,0014	0,0005	-

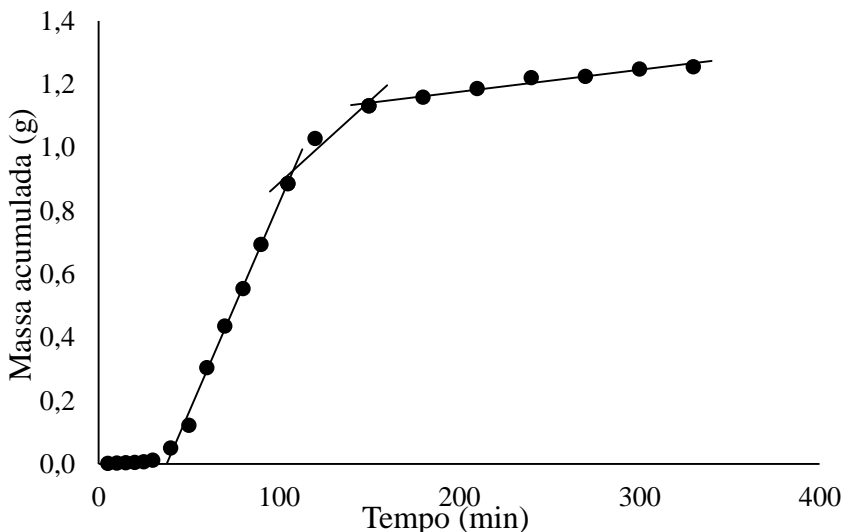
t: duração da etapa de extração; m_{ext}: massa de extrato aproximada; X₀: rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente.

Como o tempo final da etapa FER é de 150 min, o estabelecimento do tempo de ESC em 210 min para os ensaios de

obtenção dos dados de rendimento, garante que a etapa difusional seja atingida.

Uma segunda curva cinética de extração supercrítica foi construída, porém nas condições de 150 bar, 40 °C e 8,3 g/min, com objetivo de se observar o comportamento do processo de extração nessa condição, e determinar qual o tempo ideal da primeira etapa de extração supercrítica sequencial. Optou-se por escolher um tempo de extração próximo do final da etapa CER, visto que nesta etapa o soluto de fácil acesso é melhor extraído, neste caso, o soluto de fácil acesso são os ácidos graxos. Desta forma, a seleção de um tempo de extração de 105 min permite que ocorra a extração da maior quantidade possível de ácidos graxos. A curva cinética do processo nessa condição é representada na Figura 7.

Figura 7: Curva cinética de extração supercrítica de torta de chia a 150 bar e 40 °C



A Figura 7 mostra que, nas condições de 150 bar e 40 °C, e durante os primeiros 35 min, não houve obtenção de extrato, caracterizando uma fase “latente” de extração. A partir de 35 min então, teve início a etapa CER do processo. Durante o processo de extração supercrítica, inicialmente a matriz vegetal absorve o fluido supercrítico e os componentes do extrato são dissolvidos por este. Após a dissolução,

os compostos dissolvidos migram por difusão até a superfície externa do sólido, sendo então transportados para o “*bulk*”. A solubilização e difusão lenta dos compostos presentes na torta de chia provavelmente caracterizaram a fase “latente” observada nos primeiros 35 min de ESC (Figura 7).

De acordo com a discussão do item 4.4. sabe-se que em pressões de até 200 bar (Figura 8, inversão das isotermas), o fator que determina a solubilidade dos componentes é a densidade do fluido supercrítico, ou seja, quanto maior a pressão, maior é a densidade e consequentemente maior é a solubilidade do extrato no fluido supercrítico. Desta forma, pode-se entender que como a 150 bar e 40 °C a densidade do fluido supercrítico é menor do que a 200 bar e 50 °C, a solubilidade do extrato na condição de 150 bar e 40 °C é menor e portanto é necessário um tempo inicial maior para que o extrato possa ser solubilizado e a transferência de massa se inicie, justificando a presença da fase “latente” na curva da Figura 7 (150 bar) e a ausência na Figura 6 (200 bar).

Através de ajustes lineares foi possível determinar o tempo de cada etapa de extração sequencial. A Tabela 5 traz estes valores, além de outros parâmetros utilizados para a realização da modelagem da curva.

Tabela 5: Parâmetros cinéticos da curva de extração supercrítica a 150 bar e 40 °C, utilizados na modelagem matemática da curva

	CER	FER	Difusional
t (min)	35-105	105-150	>150
m_{ext} (g)	0,8861	0,2459	0,1230
X₀ (%)	5,9070	1,6392	0,8199
M (g/min)	0,0126	0,0054	0,0007
Y (g/g)	0,0015	-	-

t: duração da etapa de extração; m_{ext}: massa de extrato aproximada; X₀: rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente.

4.4. RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO

A Tabela 6 apresenta os resultados de rendimento de extração obtidos pelas diferentes técnicas. De acordo com os resultados, os melhores rendimentos foram obtidos na extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente, alcançando valores de $15,4 \pm 0,4$ % (m/m), enquanto as extrações por maceração e ultrassom promoveram

rendimentos inferiores. O melhor desempenho da extração em Soxhlet pode ser justificado pelas maiores temperaturas envolvidas no processo e pelo refluxo de solvente durante a operação. Na extração em Soxhlet o solvente é utilizado na temperatura de ebulição, e nesta condição, a tensão superficial e viscosidade do solvente são grandemente reduzidas quando comparadas com uma temperatura mais baixa, portanto o solvente pode alcançar os sítios ativos dentro da matriz com maior facilidade solubilizando os solutos (MARKOM et al., 2007). O reciclo do solvente de extração também facilita atingir o equilíbrio da transferência (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Nota-se que os dois maiores rendimentos foram obtidos por um solvente polar, na extração em Soxhlet com etanol, e por um solvente apolar, com hexano também em Soxhlet. A extração em ultrassom com hexano ($10,6 \pm 0,3$ %) apresentou rendimentos estatisticamente iguais a maceração com etanol ($9,6 \pm 0,5$ %) e ultrassom com acetato de etila ($11,2 \pm 0,2$ %). Este fato indica que a torta de chia é rica em uma grande variedade de compostos, cujos índices de polaridade variam de 0 a 5,2, com base no índice de polaridade dos solventes utilizados.

Tabela 6: Rendimentos de extração de torta de chia e densidade do solvente supercrítico em função das condições de temperatura e pressão aplicadas

Extração ⁽¹⁾	Solvente ⁽²⁾	ρCO_2 (g/cm ³) ⁽³⁾	X ₀ (%) ⁽⁴⁾
SOX	EtOH	-	15,4 ^{a,A} ± 0,4
	Hex	-	13,8 ^{b,B} ± 0,2
	EtOAc	-	12,10 ^{c,C} ± 0,03
MAC	EtOH	-	9,6 ^{ef, EF} ± 0,5
	Hex	-	9,5 ^{ef, F} ± 0,1
	EtOAc	-	11,0 ^{cd, D} ± 0,1
US	EtOH	-	11,3 ^{cd, CD} ± 0,1
	Hex	-	10,6 ^{de, DE} ± 0,3
	EtOAc	-	11,2 ^{cd, CD} ± 0,2
ESC 150 bar/40 °C	CO ₂	0,781	8,6 ^{f, β} ± 0,6
ESC 150 bar/50 °C	CO ₂	0,701	5,0 ^{g, γ} ± 0,3
ESC 200 bar/40 °C	CO ₂	0,84	8,56 ^{f, β} ± 0,04
ESC 200 bar/50 °C	CO ₂	0,785	8,4 ^{f, β} ± 0,4
ESC 250 bar/40 °C	CO ₂	0,880	9,4 ^{ef, αβ} ± 0,2
ESC 250 bar/50 °C	CO ₂	0,835	9,7 ^{ef, αβ} ± 0,6
ESC 300 bar/40 °C	CO ₂	0,911	9,3 ^{ef, αβ} ± 0,3
ESC 300 bar/50 °C	CO ₂	0,871	10,6 ^{de, α} ± 0,2

⁽¹⁾ SOX: Soxhlet; MAC: maceração; US: Ultrassom; ESC: extração supercrítica;

⁽²⁾ EtOH: etanol; Hex: hexano; EtOAc: acetato de etila; CO₂: dióxido de carbono; ⁽³⁾ANGUS, ARMSTRONG, DE REUCK (1976); ⁽⁴⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05), sendo que: a) letras minúsculas indicam análise de todos os resultados; b) letras maiúsculas indicam análise somente das extrações a baixa pressão; c) símbolos gregos sinalizam análise somente das extrações supercríticas;

O etanol, apesar de ser um solvente que solubiliza preferencialmente substâncias polares, pode também extrair lipídios, conferindo maior rendimento às extrações. As moléculas dos triglicerídeos e ácidos graxos possuem simultaneamente uma parte polar

e uma parte apolar e se as moléculas forem suficientemente grandes, cada uma destas partes pode apresentar as respectivas características de solubilidade. As partes polares dissolvem-se em água e outros solventes polares, como o etanol; as apolares dissolvem-se em solventes apolares (MORRISON; BOYD, 1981). Este é o caso do extrato obtido em Soxhlet com etanol, cujo perfil de ácidos graxos é apresentado na Tabela 10 (item 4.6.3.).

No trabalho realizado por Ixtaína et al. (2011a) foram realizadas extrações de duas espécies de sementes de chia, utilizando Soxhlet com hexano. Os resultados obtidos para rendimento de extração foram entre 33,6% e 26,7%. A diferença entre os resultados justifica-se pelo fato de que no presente estudo a amostra é uma torta após a prensagem, portanto o teor de óleo a ser extraído será inferior.

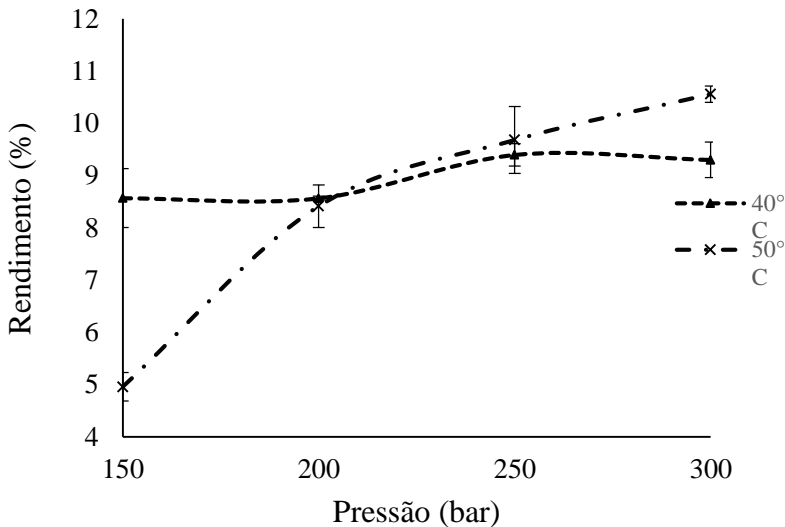
A extração supercrítica apresentou valores de rendimento estatisticamente iguais a rendimentos de extração por maceração e por ultrassom. Isso se deve à afinidade dos compostos apolares da chia com o CO₂ supercrítico, que causam um aumento no rendimento. O maior valor de rendimento de ESC foi determinado na condição de 300 bar e 50 °C (10,6 ± 0,2 %). Uma grande diferença nos resultados é percebida para as condições de 150 bar e 50 °C e 300 bar e 50 °C (Tabela 6). Este comportamento é justificado pelo aumento da densidade do solvente com a pressão, aumentando o poder de solvatação do CO₂ (BRUNNER, 1994). Ainda, o aumento da pressão pode gerar rupturas na matriz vegetal e facilitar a liberação de compostos que não estavam disponíveis anteriormente e, dessa forma, aumentar o rendimento do processo (CAMPOS et al., 2005). Com exceção dos rendimentos obtidos a 150 bar e 50 °C e 300 bar e 50 °C, os demais não apresentaram diferença estatística.

No trabalho realizado por Ixtaína et al. (2010), foram realizadas extrações supercríticas de semente de chia em condições de temperatura 40, 60 e 80 °C, pressão de 250, 350 e 450 bar, e de tempo de extração de 60, 150 e 240 min. Na condição de 250 bar, 40 °C e 240 min, o rendimento de extração foi de aproximadamente 9,07 %. Este valor é muito próximo ao valor obtido para ESC de torta de chia no presente trabalho, utilizando 250 bar, 40 °C e tempo de extração de 210 min (9,4% ± 0,2). Entretanto, no trabalho realizado por Ixtaína et al (2010) foram utilizadas sementes inteiras de chia, que contém maior teor de óleo que a torta de chia e, portanto, deveria fornecer valores maiores de rendimento. Por outro lado, a torta de chia passou por um processo de prensagem, sendo possível que este processo tenha causado um maior

rompimento celular, expondo mais o óleo da matriz vegetal ao contato com o fluido supercrítico, facilitando sua extração.

Na Figura 8, observa-se o comportamento das isothermas de extração de acordo com a pressão na ESC.

Figura 8: Isothermas de extração supercrítica da torta de chia em função da pressão de operação



A Figura 8 mostra que nas pressões mais baixas, o aumento na temperatura reduz a solubilidade devido à diminuição na densidade do solvente, enquanto que em pressões mais elevadas (maior que 200 bar) o aumento da temperatura aumenta a solubilidade devido ao aumento da pressão de vapor do soluto (BRUNNER, 1994; MICHIELIN, 2009). Este fenômeno representa a influência da pressão de vapor do soluto e do poder de solvatação do solvente, na solubilidade e também no rendimento do processo (MICHIELIN et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007).

4.5. EMPREGO DE COSSOLVENTE

Apesar da utilização de CO₂ puro como solvente supercrítico apresentar diversas vantagens, este não é eficiente na extração de compostos polares, como por exemplo compostos antioxidantes. Para

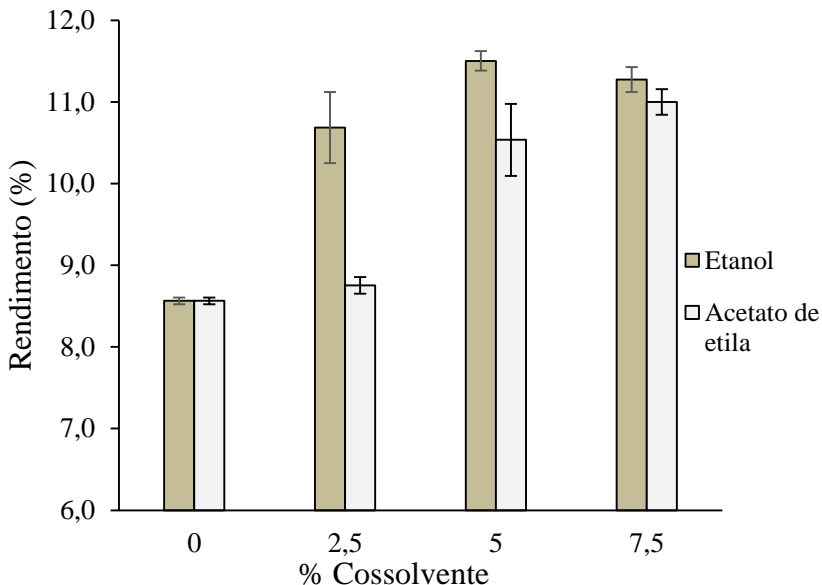
melhorar a extração desses compostos polares, que são de interesse por serem bioativos, foram realizadas extrações com etanol e acetato de etila atuando como cossolventes no processo de ESC, nas concentrações de 2,5 %, 5,0 % e 7,5 %. O uso de cossolvente torna necessário realizar uma etapa de remoção do solvente orgânico do extrato final, desta forma as quantidades de cossolvente utilizadas devem ser pequenas. As extrações foram realizadas na condição de 200 bar e 40 °C, por apresentarem os melhores resultados em termos de atividade antioxidante com CO₂ puro (resultados apresentados nos itens 4.6.1. e 4.6.2.), aliado a um valor de rendimento satisfatório (Tabela 6). Os resultados de rendimento são mostrados da Tabela 7 e Figura 9.

Tabela 7: Rendimentos obtidos com o emprego de cossolvente na extração supercrítica de torta de chia

Solvente (%)	Rendimento (%)⁽¹⁾
0 %	8,56 ^b ± 0,04
Etanol 2,5 %	10,7 ^a ± 0,4
Etanol 5,0 %	11,5 ^a ± 0,1
Etanol 7,5 %	11,3 ^a ± 0,1
Acetato de etila 2,5 %	8,7 ^b ± 0,1
Acetato de etila 5,0 %	10,5 ^a ± 0,4
Acetato de etila 7,5 %	11,0 ^a ± 0,2

⁽¹⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Figura 9: Rendimentos de extração utilizando etanol e acetato de etila como cossolventes na extração supercrítica de torta de chia



Nas ESC que utilizaram etanol como cossolvente houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos somente com CO₂ puro e utilizando etanol acima de 2,5 %. Isso mostra a utilização de etanol permite a extração de compostos polares, que não são extraídos utilizando apenas CO₂ supercrítico como solvente. Já entre as três concentrações de etanol utilizadas, todas apresentaram rendimentos estatisticamente iguais. Assim, pode-se concluir que a mistura CO₂/etanol tem a capacidade de aumentar dissolução de compostos polares presentes na amostra, proporcionando o aumento significativo do rendimento, mas somente em concentrações de até 2,5 % de etanol. Em concentrações superiores de etanol, a interação da mistura CO₂/etanol com os compostos polares não se altera, e portanto não há aumento no rendimento.

Não houve diferença estatística de rendimento em ensaios realizados com CO₂ puro e CO₂ + acetato de etila a 2,5%. Nas concentrações de 5,0 % e 7,5 %, os rendimentos apresentaram-se estatisticamente iguais entre si e superiores estatisticamente ao rendimento na concentração de 2,5 %.

O etanol foi o cossolvente mais eficiente utilizado, o qual

permitiu obter um rendimento de extração igual ao obtido utilizando acetato de etila, porém em concentrações inferiores.

4.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE EXTRATOS OBTIDOS POR EXTRAÇÕES A BAIXA PRESSÃO E EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

4.6.1. Teor de fenólicos totais (TFT)

Os valores de TFT encontrados para extratos obtidos em Soxhlet, maceração, ultrassom, ESC estão apresentados na Tabela 8. Os compostos fenólicos são as principais substâncias responsáveis pela atividade antioxidante da torta de chia, estando entre eles o ácido clorogênico, kaempferol, ácido cafeico, quercitina e miricetina.

A determinação do teor de fenólicos totais (TFT) presente nos extratos de torta de chia foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965; PESCHEL et al., 2006). Neste método, o teor de fenólicos totais é representado em equivalente de ácido clorogênico, composto fenólico presente na torta de chia. A curva padrão de ácido clorogênico é apresentada no Anexo B.

O teor de compostos fenólicos totais dos extratos de torta de chia variou entre 15 ± 1 a 79 ± 2 mg EAC/g extrato. Os valores determinados são bastante inferiores a 423 mg EAC/g, valor obtido por Benelli et al. (2010), para o antioxidante sintético BHT utilizando o mesmo método de determinação. Isso indica que os extratos avaliados são menos concentrados em compostos fenólicos do que o antioxidante sintético BHT.

Tabela 8: Teor de compostos fenólicos totais (TFT), expressos em equivalentes de ácido clorogênico (EAC), para os extratos de torta de chia obtidos a baixa pressão e por extração supercrítica (ESC)

Técnica de extração	Solvente	TFT (mg EAC/g ext)⁽¹⁾
Soxhlet	EtOH	50 ^b ± 3
	Hex	31 ^{efgh} ± 3
	EtOAc	25,4 ^h ± 0,6
Maceração	EtOH	39 ^{cd} ± 1
	Hex	34 ^{def} ± 2
	EtOAc	79 ^a ± 2
Ultrassom	EtOH	40,8 ^c ± 0,6
	Hex	31 ^{efgh} ± 1
	EtOAc	29 ^{fgh} ± 2
ESC 150 bar 40 °C	CO ₂	34 ^{def} ± 3
ESC 150 bar 50 °C	CO ₂	15 ⁱ ± 1
ESC 200 bar 40 °C	CO ₂	29 ^{efgh} ± 2
ESC 200 bar 50 °C	CO ₂	32 ^{efg} ± 2
ESC 250 bar 40 °C	CO ₂	31 ^{efgh} ± 2
ESC 250 bar 50 °C	CO ₂	27,1 ^{gh} ± 0,6
ESC 300 bar 40 °C	CO ₂	29 ^{fgh} ± 2
ESC 300 bar 50 °C	CO ₂	29 ^{fgh} ± 2
ESC 200 bar 40 °C	CO ₂ + EtOH 2,5 %	32 ^{efg} ± 2
	CO ₂ + EtOH 5,0 %	33,5 ^{def} ± 0,9
	CO ₂ + EtOH 7,5 %	35 ^{cde} ± 1
	CO ₂ + EtOAc 2,5 %	27 ^{gh} ± 2
	CO ₂ + EtOAc 5,0 %	30 ^{efgh} ± 3
	CO ₂ + EtOAc 7,5 %	27 ^{gh} ± 2

(1) Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

A técnica de extração que gerou extratos com maior teor de fenólicos totais foi a técnica de maceração utilizando o solvente acetato de etila, que apresentou valor de 79 ± 2 mg EAC/g extrato. Por ser uma técnica de extração que ocorre em temperatura ambiente, a maceração é

capaz de extrair compostos fenólicos sem degradá-los pelo calor. No trabalho de Andrade et al. (2011), o solvente acetato de etila gerou extratos de borra de café com alto teor de compostos fenólicos, apresentando valor de 553 ± 60 mg EAC/g extrato. No trabalho de Mazzutti et al. (2012), extratos de *Agaricus brasiliensis* obtidos através de extração com acetato de etila apresentaram os maiores valores de TFT (46 ± 2 mg EAC/g extrato) em comparação com os demais solventes usados na extração em Soxhlet.

A extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente também proporcionou solventes com bons resultados de TFT, em comparação com as demais técnicas. O etanol é o solvente mais indicado na extração de compostos antioxidantes, pois, devido à sua característica polar, promove a extração de compostos como ácidos fenólicos (BISCAIA, 2007). Apesar de a extração em Soxhlet ocorrer em temperaturas relativamente altas, que podem degradar os compostos fenólicos, é possível que a temperatura elevada, juntamente com o reciclo do solvente tenha possibilitado a extração de uma quantidade maior de compostos fenólicos, fazendo com que o extrato apresente um TFT maior.

No trabalho de Reyes-Caudillo, Tecante e Valdivia-López (2008), foram obtidos extratos etanólicos de semente de chia. O teor de fenólicos totais foi determinado em equivalente ácido gálico, apresentando valores de $0,92 \pm 0,04$ mg EAG/g extrato para extrato de semente de chia da espécie Jalisco e $0,880 \pm 0,008$ mg EAG/g extrato para extrato de semente de chia da espécie Sinaloa. Os extratos de torta de chia obtidos no presente trabalho podem ter seu valor de TFT calculados também em termos de ácido gálico, graças a construção de uma curva padrão desta substância, apresentada no Anexo B. No presente estudo, valor de TFT para extrato de torta de chia obtido através de ultrassom com etanol foi de $0,440 \pm 0,003$ mg EAG/g extrato, o que é um valor bastante próximo dos resultados obtido por Reyes-Caudillo, Tecante e Valdivia-López (2008) ($0,92 \pm 0,04$ e $0,880 \pm 0,008$ mg EAG/g extrato), considerando que estes realizaram o trabalho com sementes inteiras de chia. Além disso, fatores como diferentes espécies, condições climáticas e local de cultivo podem influenciar a composição das sementes.

Com relação aos valores de TFT de extratos obtidos através de ESC utilizando CO₂ puro como solvente, o maior valor de TFT encontrado foi $33,8 \pm 2,8$ mg EAC/g extrato, sendo que, para a mesma técnica, este valor só se diferiu estatisticamente dos valores obtidos para 150 bar e 50 °C (15 ± 1 mg EAC/g extrato) e 250 bar e 50 °C ($27,1 \pm$

0,6 mg EAC/g extrato). Utilizando etanol a 7,5 % como cossolvente na condição de 200 bar e 40 °C obteve-se um valor de TFT de 35 ± 1 mg EAC/g extrato, enquanto para a mesma condição, utilizando CO₂ puro, o valor obtido foi de 29 ± 2 mg EAC/g extrato, porém estes valores não apresentaram diferença significativa.

De forma geral, avaliando os resultados de TFT, os melhores valores foram obtidos com extração através de maceração utilizando acetato de etila, Soxhlet com etanol e ESC a 200 bar e 40 °C, utilizando etanol a 7,5 % como cossolvente.

4.6.2. Determinação da atividade antioxidante através do método ABTS

Esta análise teve como o objetivo verificar a capacidade dos extratos de torta de chia em sequestrar o radical cátion 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), representada em equivalente padrão antioxidante (Trolox, 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) cuja curva padrão é apresentada no Anexo B. Este método é uma excelente ferramenta para determinar a atividade antioxidante de compostos doadores de hidrogênio e de compostos terminadores de cadeias (RE et al., 1999).

A Tabela 9 apresenta a porcentagem de inibição do radical ABTS causada pelo extrato analisado, calculada conforme descrito no item 3.10.1., bem como os valores de atividade antioxidante dos extratos de torta de chia, avaliados de acordo com sua capacidade de sequestrar o radical ABTS, expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC).

Observando a Tabela 9 percebe-se que os extratos obtidos em Soxhlet utilizando etanol e acetato de etila (83 ± 1 e 79 ± 5 µM TEAC/g ext, respectivamente) bem como extratos obtidos através de maceração (78 ± 5 µM TEAC/g ext) e ultrassom (85 ± 4 µM TEAC/g ext) também utilizando acetato de etila apresentaram os melhores valores de TEAC, não havendo diferença estatística entre estes valores. Salvador (2014) também obteve bons resultados em termos de AA para extratos de torta de noz pecã obtidos em Soxhlet com os solventes polares etanol (143 ± 4 µM TEAC/g ext) e acetona (261 ± 21 µM TEAC/g ext). Estes resultados demonstram claramente a afinidade de compostos com atividade antioxidante presentes na torta de chia com solventes de polaridade intermediária a alta. A extração através de ultrassom

utilizando hexano também apresentou alto valor de TEAC, em comparação com as demais ($65 \pm 5 \mu\text{M TEAC/g ext}$), apesar de o hexano ser um solvente apolar. Segundo Re et al (1999), o método ABTS para determinação da atividade antioxidante é aplicável tanto em sistemas contendo antioxidantes hidrofílicos como lipofílicos. Desta forma, pode-se deduzir que a atividade antioxidante dos extratos obtidos por hexano em ultrassom seja proveniente de substâncias com caráter apolar, e que a técnica de ultrassom, causando o fenômeno de cavitação, facilite a liberação e solubilização de compostos presentes nos poros da matriz vegetal.

Tabela 9: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de torta de chia

Técnica de extração	Solvente	Inibição (%)	TEAC ($\mu\text{M TEAC/g ext}$) ⁽¹⁾
Soxhlet	EtOH	7,6 ^a ±0,1	83 ^a ± 1
	Hex	3,6 ⁱ ± 0,1	26 ⁱ ± 1
	EtOAc	7,4 ^a ± 0,4	79 ^a ± 5
Maceração	EtOH	3,9 ^{ghi} ± 0,1	31 ^{ghi} ± 2
	Hex	4,6 ^{ef} ± 0,3	41 ^{ef} ± 4
	EtOAc	7,3 ^a ± 0,3	78 ^a ± 5
Ultrassom	EtOH	3,8 ^{hi} ± 0,1	29 ^{hi} ± 1
	Hex	6,4 ^{bc} ± 0,4	65 ^b ± 5
	EtOAc	7,8 ^a ± 0,3	85 ^a ± 4
ESC 150 bar 40 °C	CO ₂	3,8 ^{hi} ± 0,1	30 ^{ghi} ± 1
ESC 150 bar 50 °C	CO ₂	3,8 ^{ghi} ± 0,2	30 ^{ghi} ± 3
ESC 200 bar 40 °C	CO ₂	6,6 ^b ± 0,1	68 ^b ± 1
ESC 200 bar 50 °C	CO ₂	4,7 ^{ef} ± 0,2	43 ^{ef} ± 3
ESC 250 bar 40 °C	CO ₂	4,1 ^{fghi} ± 0,2	34 ^{fghi} ± 3
ESC 250 bar 50 °C	CO ₂	3,7 ^{hi} ± 0,1	29 ^{hi} ± 2
ESC 300 bar 40 °C	CO ₂	2,9 ^j ± 0,2	17 ^j ± 3
ESC 300 bar 50 °C	CO ₂	4,3 ^{fgh} ± 0,2	37 ^{fgh} ± 3
ESC 200 bar 40 °C	CO ₂ + EtOH 2,5 %	6,2 ^{bc} ± 0,2	62 ^{bc} ± 3
	CO ₂ + EtOH 5,0 %	4,4 ^{fg} ± 0,2	39 ^{fg} ± 3
	CO ₂ + EtOH 7,5 %	5,4 ^d ± 0,1	52 ^d ± 2
	CO ₂ + EtOAc 2,5 %	6,3 ^{bc} ± 0,3	64 ^{bc} ± 4
	CO ₂ + EtOAc 5,0 %	5,1 ^{de} ± 0,1	48 ^{de} ± 2
	CO ₂ + EtOAc 7,5 %	5,7 ^{cd} ± 0,1	56 ^{cd} ± 2

⁽¹⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Entre os extratos obtidos por extração supercrítica, a condição de 200 bar e 40 °C utilizando CO₂ puro forneceram os melhores valores de TEAC (68 ± 1 $\mu\text{M TEAC/g ext}$), sendo estatisticamente igual ao valor obtido por ultrassom com hexano, o que novamente indica a extração de substâncias antioxidantes com caráter apolar. A adição de EtOH e

EtOAc na faixa de 2,5 % a 7,5 % na ESC a 200 bar e 40 °C não forneceu valores de TEAC superiores aos já obtidos utilizando CO₂ puro na mesma condição.

4.6.3. Determinação do perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos em extração a baixa pressão e extração supercrítica

A técnica de cromatografia gasosa (CG) foi utilizada neste estudo para a avaliação do perfil de ácidos graxos dos extratos de torta de chia. Para esta análise foram selecionados extratos obtidos através de extração supercrítica e métodos à baixa pressão utilizando hexano como solvente, além de um extrato obtido em Soxhlet com etanol. O perfil de ácidos graxos para os extratos é apresentado na Tabela 10.

Os ácidos graxos identificados nos extratos de torta de chia foram os ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico. Estes ácidos também foram identificados por Martínez et al. (2012) e Ixtaína et al. (2011a; 2011b) ao avaliarem extratos de sementes de chia obtido por prensagem a frio, extração supercrítica e extração utilizando solventes. Os ácidos graxos majoritários identificados em todos os extratos foram os ácidos linoleico e α -linolênico, resultado que é consistente com os valores obtidos por Martínez et al. (2012) e Ixtaína et al. (2011a; 2011b).

Analisando o perfil de ácidos graxos com relação ao teor de ácido palmítico, a extração em Soxhlet utilizando EtOH gerou extratos com o maior teor deste ácido ($8,81 \pm 0,09\%$), sendo porém estatisticamente igual a todas as demais condições de extração, com exceção da ESC a 250 bar e 50 °C ($7,4 \pm 0,1\%$). No entanto, esta diferença entre o maior e o menor teor de ácido palmítico é bastante pequena, fazendo parte do erro experimental.

O teor de ácido esteárico foi estatisticamente igual para todos os extratos, obtidos nas diferentes condições avaliadas. Com relação ao teor de ácido oleico, a condição de ESC a 200 bar e 40 °C com EtOAc a 7,5%, forneceu o extrato que apresentou o menor valor de ácido oleico ($5,1 \pm 0,4\%$). Os maiores teores foram obtidos em US com hexano ($7,6 \pm 0,4\%$) e ESC a 300 bar e 50 °C ($7,5 \pm 0,7\%$). A pequena diferença entre o maior e o menor valor do teor de ácido oleico é parte do erro experimental da análise. Em seu trabalho, Salvador (2014) também observou que extratos de torta de noz pecã obtidos utilizando hexano

como solvente e obtidos na pressão de 300 bar apresentaram os maiores teores de ácido oleico.

Tabela 10: Perfil de ácidos graxos de extratos de torta de chia obtidos através de extrações a baixa pressão e ESC

Técnica de extração/solvente ou condição operacional	Teor de ácido graxo (%) ⁽¹⁾				
	Ácido palmítico (C16:0)	Ácido esteárico (C18:0)	Ácido oleico (C18:1)	Ácido linoleico (C18:2)	Ácido α -linolênico (C18:3)
SOX/EtOH	8,81 ^a ±0,09	2,2 ^a ±0,4	5,3 ^{ab} ±0,2	19,9 ^b ±0,5	67 ^a ±1
SOX/Hex	7,9 ^{ab} ±0,1	2,3 ^a ±0,2	6,9 ^{ab} ±0,4	20,1 ^b ±0,5	62,8 ^a ±0,3
MAC/Hex	7,6 ^{ab} ±0,5	2,3 ^a ±0,2	6,4 ^{ab} ±0,4	19,8 ^b ±0,2	64,0 ^a ±0,1
US/Hex	7,9 ^{ab} ±0,1	2,66 ^a ±0,04	7,6 ^a ±0,4	22 ^a ±1	59 ^b ±1
ESC/150 bar 40 °C	7,81 ^{ab} ±0,07	2,47 ^a ±0,09	6,7 ^{ab} ±0,6	19,8 ^b ±0,3	63 ^a ±1,
ESC/150 bar 50 °C	8,73 ^{ab} ±0,02	1,8 ^a ±0,4	6,1 ^{ab} ±0,8	19,7 ^b ±0,4	63,6 ^a ±0,8
ESC/200 bar 40 °C	7,6 ^{ab} ±0,3	2,5 ^a ±0,5	6,3 ^{ab} ±0,2	19,7 ^b ±0,4	64 ^a ±1
ESC/200 bar 50 °C	8,2 ^{ab} ±0,2	2,6 ^a ±0,3	6 ^{ab} ±1	19,8 ^b ±0,2	63,0 ^a ±0,9
ESC/250 bar 40 °C	7,6 ^{ab} ±0,3	2,25 ^a ±0,01	6,0 ^{ab} ±0,6	19,5 ^b ±0,3	64,7 ^a ±0,6
ESC/250 bar 50 °C	7,4 ^b ±0,1	2,7 ^a ±0,4	6,8 ^{ab} ±0,4	20,0 ^b ±0,1	63,0 ^a ±0,6
ESC/300 bar 40 °C	8,3 ^{ab} ±0,4	2,0 ^a ±0,2	6,5 ^{ab} ±0,7	19,3 ^b ±0,2	63,8 ^a ±0,2
ESC/300 bar 50 °C	8,1 ^{ab} ±0,4	2,3 ^a ±0,3	7,5 ^a ±0,7	19,7 ^b ±0,5	62,3 ^{ab} ±0,2
ESC/200 bar 40°C, EtOH 7,5%	7,8 ^{ab} ±0,8	2,34 ^a ±0,09	6,3 ^{ab} ±0,6	19,6 ^b ±0,1	63,90 ^a ±0,08
ESC/200 bar 40°C, EtOAc 7,5%	8,1 ^{ab} ±0,1	2,3 ^a ±0,3	5,1 ^b ±0,4	20,4 ^b ±0,5	64,02 ^a ±0,08

⁽¹⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

O maior teor de ácido linoleico foi obtido nos extratos de US com hexano ($22 \pm 1\%$), enquanto os demais extratos apresentaram teores estatisticamente inferiores e iguais entre si. A extração por US causa o fenômeno de cavitação que pode facilitar a liberação e solubilização do ácido linoleico pelo solvente. Por outro lado, a técnica de ultrassom forneceu extratos com o menor teor de ácido α -linolênico ($59 \pm 1\%$). Como estes dados são expostos em percentagem relativa, a extração de ácido oleico e linoleico pode ter sido favorecida nesta técnica, o que torna o teor de ácido α -linolênico menor, com relação a quantidade dos outros dois ácidos. Todas as demais técnicas geraram extratos com teores de ácido α -linolênico iguais estatisticamente.

De forma geral, os teores de ácidos graxos de extrato de torta de chia determinados neste trabalho apresentaram variações muito pequenas para extratos obtidos por diferentes técnicas. Os dados obtidos são coerentes com os dados de perfil de ácidos graxos de óleo de semente de chia, obtido por prensagem no trabalho de Martínez et al. (2012).

Os ácidos graxos ácido α -linolênico e ácido linoleico são muito importantes para a manutenção da saúde por reduzirem a incidência de inflamações, doenças cardíacas e manterem a integridade celular do organismo (YAO et al., 2012; LUDWIG et al., 2013). Todos os extratos obtidos mostraram-se bastante ricos nestes dois componentes. Além disso, é possível notar que os extratos obtidos por extração supercrítica possuem o mesmo teor de ácido linoleico e α -linolênico do que extratos obtidos utilizando solventes orgânicos, o que torna ainda mais interessante a substituição de extrações que utilizam solventes orgânicos por uma tecnologia limpa de extração, como a extração supercrítica.

4.6.4. Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos em extração a baixa pressão e extração supercrítica

4.6.4.1. Difusão em ágar

A atividade antibacteriana dos extratos de torta de chia obtidos por diferentes técnicas de extração foi avaliada inicialmente pela técnica de difusão em ágar utilizando os microrganismos *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Através deste primeiro ensaio foi possível selecionar os extratos que apresentaram inibição contra os microrganismos testados e aplicar o teste de concentração mínima inibitória (CMI). Foram realizados preliminares com solução de DMSO a 60 % e constatou-se

que a solução não teve nenhum efeito antimicrobiano, podendo ser utilizada nos testes. A Figura 10 e a Figura 11 mostram as placas de teste com o halo de inibição causado pela ação do antibiótico cloranfenicol e a ausência de halo nos poços onde foram utilizadas como controle a solução de DMSO 60%.

Figura 10: Placa de teste apresentando presença de halos de inibição para solução de antibiótico cloranfenicol



Figura 11: Placa de teste apresentando ausência de halos de inibição para soluções de DMSO até 60 %



Os extratos que apresentaram halo de inibição superiores a 9 mm, que indicam efeito antimicrobiano (SMÂNIA et al., 1995; MICHIELIN et al., 2009) foram: SOX-EtOH, US-EtOAc, MAC-EtOH, ESC 150 bar/40 °C, ESC 150 bar/50 °C, ESC 300 bar/40 °C, ESC CO₂+EtOH (5,0%), ESC CO₂+EtOH (7,5%), ESC CO₂+EtOAc (5,0%), ESC EtOAc 7,5%. Estes extratos com resultados positivos foram selecionados para a continuidade dos ensaios de atividade antimicrobiana. Na sequência foram analisados através dos ensaios de determinação da concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de micro-diluição em caldo.

4.6.4.2. Concentração mínima inibitória (CMI)

A CMI foi avaliada em uma faixa de concentrações de 50.000 µg/mL até 97,65 µg/mL. A Tabela 11 traz os valores de CMI para os extratos selecionados a partir da difusão em ágar.

Tabela 11: Concentração mínima inibitória dos extratos obtidos em técnicas a baixa pressão e em ESC contra *B. cereus* e *E.coli*

Extrato em função do sistema extrativo empregado	CMI ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>B. cereus</i>	<i>E.coli</i>
SOX-EtOH	12.500	>50.000
US-EtOAc	25.000	>50.000
MAC-EtOH	50.000	>50.000
ESC 150 bar/40 °C	6.250	>50.000
ESC 150 bar/50 °C	12.500	>50.000
ESC 300 bar/40 °C	6.250	>50.000
ESC 200 bar /40°C EtOH 5,0%	3.125	>50.000
ESC 200 bar /40°C EtOH 7,5%	12.500	>50.000
ESC 200 bar /40°C EtOAc 2,5%	12.500	>50.000
ESC 200 bar /40°C EtOAc 5,0%	6.250	>50.000
ESC 200 bar /40°C EtOAc 7,5%	12.500	>50.000

De acordo com Sartoratto et al. (2004), Duarte et al. (2007) e Wang et al. (2008) é possível classificar os materiais como agentes antimicrobianos baseando-se nos seus valores de CMI. Comumente, a classificação do extrato é estabelecida como forte inibidor para CMI até 500 $\mu\text{g/mL}$; moderado inibidor para CMI entre 600 e 1500 $\mu\text{g/mL}$ e fraco inibidor para CMI acima de 1600 $\mu\text{g/mL}$. Com relação a bactéria *E. coli*, nenhum extrato apresentou inibição ao crescimento de *E. coli* na faixa de concentração testada. Contra a bactéria *B. cereus*, todos os extratos apresentaram atividade, sendo todos classificados como fraco inibidor. Os extratos obtidos por ESC apresentaram valores de CMI menores do que extratos obtidos a baixa pressão. É possível também perceber que a adição de cossolvente no processo de ESC foi muito benéfica para a extração de compostos antimicrobianos, visto que apenas a condição de 200 bar e 40 °C com EtOH 2,5% não apresentou atividade.

É possível notar que, apesar de todos os extratos classificarem-se como fracos inibidores, todos os extratos testados no ensaio de determinação da CMI apresentaram atividade contra a bactéria *B. cereus* (Gram-positiva), enquanto nenhum extrato apresentou atividade contra *E.coli* (Gram-negativa). O mesmo comportamento também foi verificado por Smith-Palmer et al. (1998), Boussaada et al. (2008) e por

Michielin et al. (2009) para outras matérias-primas. Diferenças na membrana celular dos grupos de bactérias, podem ocasionar este comportamento. Bactérias gram-positivas possuem a presença de maior quantidade de peptidoglicano na membrana celular, já nas bactérias gram-negativas esta camada é mais delgada. Extratos obtidos por ESC com cossolvente também se destacaram por apresentarem atividade contra *B. cereus*.

Os compostos que exercem essa atividade antibacteriana ainda não estão completamente esclarecidos na literatura, porém, é possível que este efeito seja causado pelos ácidos graxos presentes no extrato. No estudo de Zheng et al. (2005), os ácidos graxos insaturados testados (ácidos oleico, linoleico, linolênico, palmitoleico e araquidônico) apresentaram atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas de *S. aureus* e *S. pyogenes*, porém não apresentaram atividade antibacteriana sobre contra Gram-negativas de *E. coli* e *P. aeruginosa*. Os ácidos graxos saturados (ácido esteárico e ácido palmítico) testados não foram ativos em Gram-positivas e nem em Gram-negativas. Considerando os resultados obtidos por Zheng et al. (2005), e sabendo que os extratos de torta de chia possuem perfis de ácidos graxos compostos em sua maioria por ácidos graxos insaturados, é plausível a consideração de que a atividade antimicrobiana seja proveniente de ácidos graxos insaturados. No entanto, outros compostos presentes na semente de chia possuem atividade antimicrobiana, como por exemplo os compostos fenólicos. Em seu estudo, Cetin-Karaca (2011) avaliou a atividade antimicrobiana de ácido clorogênico, miricetina e quercitina e constatou que estes três compostos fenólicos possuem atividade contra *E. coli* e *B. cereus*. Este pode ser um indicativo de que os compostos fenólicos presentes na chia também contribuem na atividade antimicrobiana dos extratos.

4.7. EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA SEQUENCIAL

A realização de um ensaio de extração supercrítica sequencial (ESC-S) da torta de chia teve como objetivo gerar extratos com uma composição rica em uma maior variedade de compostos nas diferentes etapas, através da modulação do poder de solvatação do CO₂ supercrítico, variando parâmetros como a pressão e temperatura de extração e fazendo a adição de cossolvente no processo.

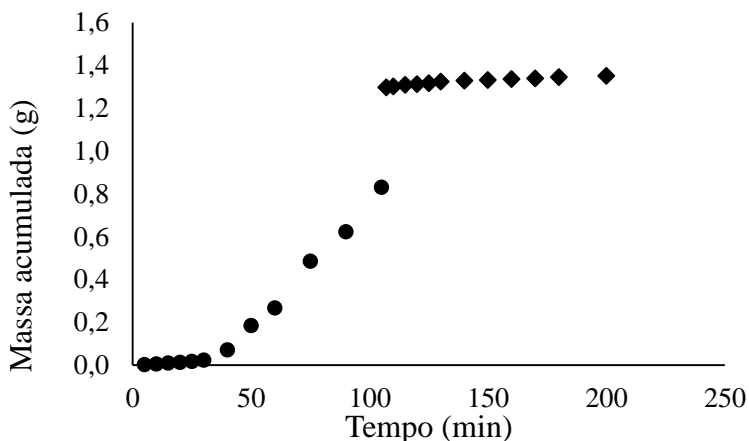
Foram realizadas extrações sequenciais em duas etapas, sendo a primeira na condição de 150 bar, 40 °C e vazão de 8,3g/min, com CO₂ puro e tempo de duração de 105 min e a segunda etapa na condição de

200 bar, 40°C, vazão de 8,3 g/min, tempo de extração de 105 min, utilizando como solventes CO₂ puro e mistura CO₂ com etanol 7,5 %.

Ao final da primeira etapa de extração e antes do início da segunda etapa, foi realizada uma depressurização rápida do sistema, com objetivo de romper as células da matriz vegetal e expor seus componentes ao fluido supercrítico, buscando o aumento de rendimento.

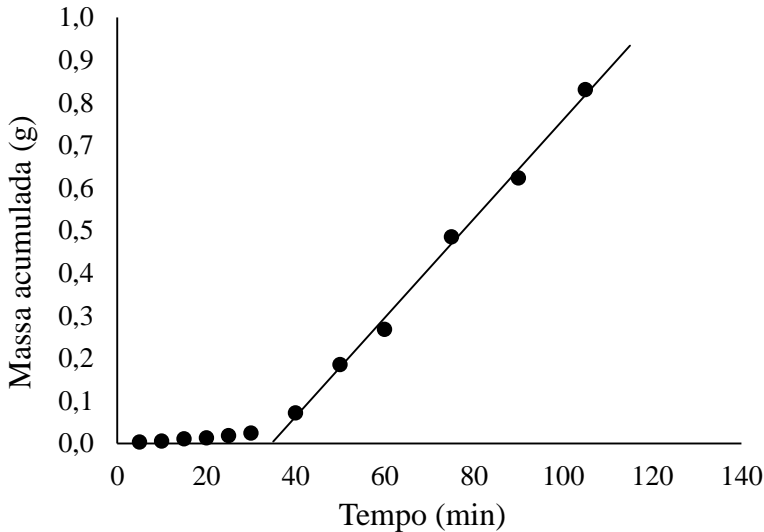
Com objetivo de compreender melhor o processo de extração sequencial, foi construída uma curva cinética deste, utilizando CO₂ supercrítico puro como solvente nas duas etapas de extração, representada na Figura 12.

Figura 12: Curva cinética de ESC-S de torta de chia, sendo: • = primeira etapa a 150 bar e 40 °C; ♦ = segunda etapa, após depressurização rápida, a 200 bar e 40 °C.



A Figura 12 foi separada para melhor visualização das duas etapas de extração, como mostram a Figura 13 e Figura 14.

Figura 13: Curva cinética de primeira etapa da extração supercrítica sequencial da torta de chia



A curva da primeira etapa de extração da ESC-S ocorre até 105 minutos, logo antes de ocorrer o processo de despressurização rápida. Percebe-se que esta curva é constituída apenas da etapa CER. Este era o comportamento esperado para um tempo de extração de 105 min em ESC a 150 bar e 40 °C, conforme mostra o ensaio cinético (item 4.3.). A Tabela 12 traz os parâmetros cinéticos da primeira etapa de ESC-S. Nesta tabela são apresentados apenas os dados da etapa CER, devido à ausência das etapas FER e difusional na curva da primeira etapa de ESC-S.

Tabela 12: Parâmetros cinéticos da primeira etapa da extração supercrítica sequencial (150 bar e 40 °C), utilizados na modelagem matemática da curva

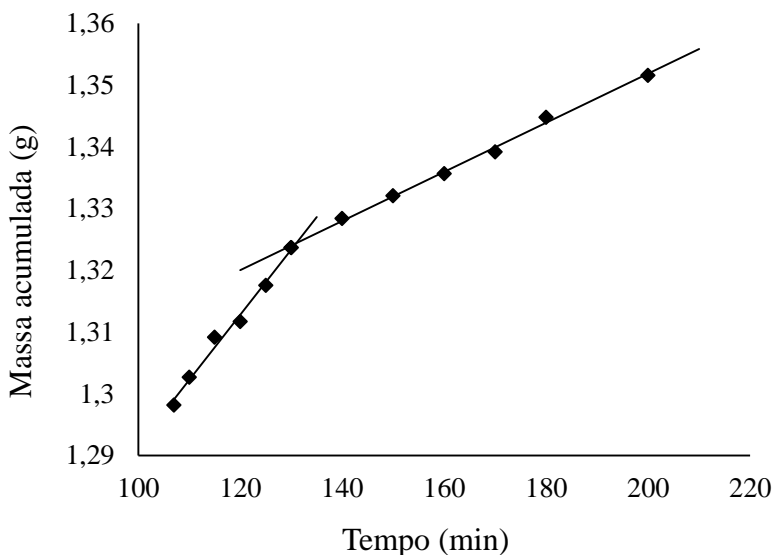
CER	
t (min)	35-105
m_{ext} (g)	0,8315
X₀ (%)	5,5433
M(g/min)	0,0119
Y (g/g)	0,0014

t: duração da etapa de extração; m_{ext}: massa de extrato aproximada; X₀: rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase

solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente.

A segunda parte da ESC-S, quando representada separadamente (Figura 14), apresenta detalhes que não são perceptíveis quando esta é representada juntamente com a primeira etapa (Figura 13), devido à diferença de escala do gráfico.

Figura 14: Curva cinética de segunda etapa da extração supercrítica sequencial da torta de chia



A segunda etapa de extração ocorre após o processo de depressurização rápida. O sistema é então novamente pressurizado até 200 bar, mantendo-se a temperatura de 40 °C e dando início a extração. Para a análise desta etapa, considerou-se a segunda etapa de extração como uma extração totalmente nova, porém com um “novo” leito de extração com menor quantidade de extrato disponível a ser extraído. Assim, caracterizando a segunda etapa de extração como uma nova extração, percebe-se nitidamente que as duas tendências diferentes da curva são as etapas CER e FER da segunda etapa da ESC-S.

Os parâmetros cinéticos da segunda etapa de extração sequencial, utilizados também na modelagem matemática (item 4.9.), estão apresentados na Tabela 13. O valor de t_{CER} utilizado na

modelagem matemática foi de 130 min. Para a etapa FER, t_{FER} tem valor de 200 minutos. A etapa difusional não foi detectada na curva cinética da segunda etapa de ESC-S.

Tabela 13: Parâmetros cinéticos da segunda etapa da extração supercrítica sequencial (200 bar e 40 °C), utilizados na modelagem matemática da curva

	CER	FER
t (min)	107-130	130-200
m_{ext} (g)	0,0255	0,0279
X₀ (%)	0,1853	0,2028
M(g/min)	0,0011	0,0004
Y (g/g)	0,0001	4,7847.10 ⁻⁵

t: duração da etapa de extração; m_{ext}: massa de extrato aproximada; X₀: rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente.

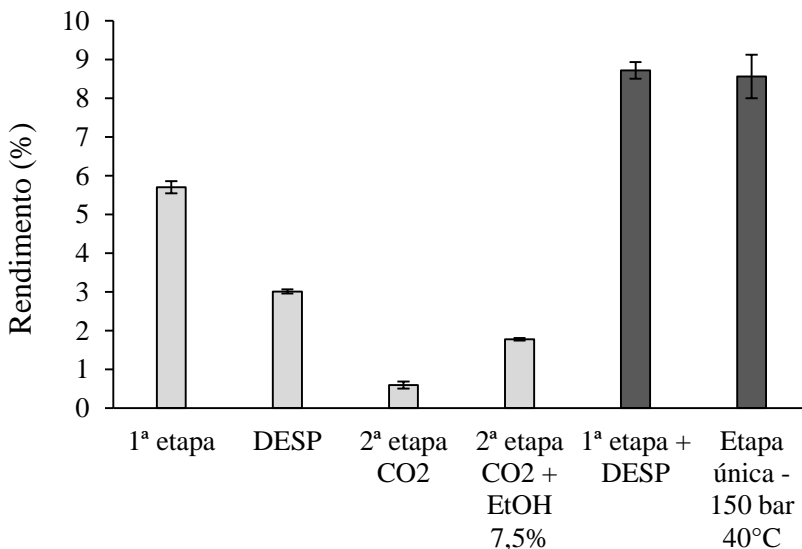
Os rendimentos de cada etapa de extração foram determinados e são apresentados na Tabela 14 e Figura 15.

Tabela 14: Rendimentos obtidos no processo ESC-S de torta de chia nas diferentes etapas

Etapa⁽¹⁾	Solvente	Condições operacionais	Rendimento(%)(²)
1 ^a	CO ₂	150 bar, 40 °C	5,7 ± 0,2
DESP	CO ₂	150 bar – P ambiente, 40 °C	3,02 ± 0,06
2 ^a	CO ₂	200 bar, 40 °C	0,60 ^a ± 0,09
2 ^a	CO ₂ + EtOH 7,5%	200 bar, 40 °C	1,78 ^b ± 0,03
1 ^a + DESP	CO ₂	150 bar 40 °C	8,7 ^B ± 0,2
1 ^a + DESP + 2 ^a	CO ₂	150 e 200 bar, 40 °C	9,3 ^{AB} ± 0,1
1 ^a + DESP + 2 ^a	CO ₂ + (CO ₂ + EtOH 7,5%)	150 e 200 bar, 40 °C	10,5 ^A ± 0,2
Etapa Única	CO ₂	150 bar, 40 °C	8,6 ^B ± 0,6

⁽¹⁾DESP: Etapa de depressurização rápida; Etapa única: ESC 150 bar 40°C; ⁽²⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que: a) letras minúsculas indicam análise da segunda etapa; b) letras maiúsculas indicam análise de mais de duas ou mais etapas juntas.

Figura 15: Rendimentos obtidos nas diferentes etapas do processo extração supercrítica sequencial e na extração supercrítica em etapa única da torta de chia



Não houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos para ESC em etapa única a 150 bar e 40°C e rendimentos obtidos na 1ª etapa + despressurização, em ESC-S (1ª etapa + DESP). Observando a Figura 12, percebe-se que com o processo de despressurização rápida, o rendimento de extração deu um “salto”, atingindo um valor de massa de extrato acumulada que em uma extração supercrítica convencional a 150 bar e 40°C só seria atingido 105 minutos depois, como mostra a Figura 7.

A Figura 16 e Figura 17 mostram a economia de CO₂ gerada pelo processo de ESC-S, onde foram consumidos aproximadamente 890 g de CO₂ para a obtenção de aproximadamente 1,3 g de extrato. Em uma ESC convencional a 150 bar e 40 °C (Figura 17), para a obtenção de cerca de 1,25 g extrato, é necessário aproximadamente 2750 g de CO₂.

Figura 16: Consumo de CO₂ em função da massa de extrato obtida para ESC-S de torta de chia

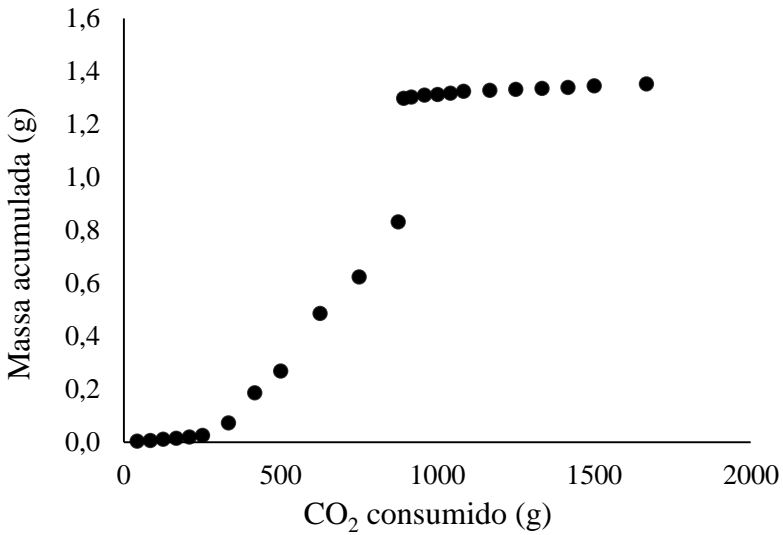
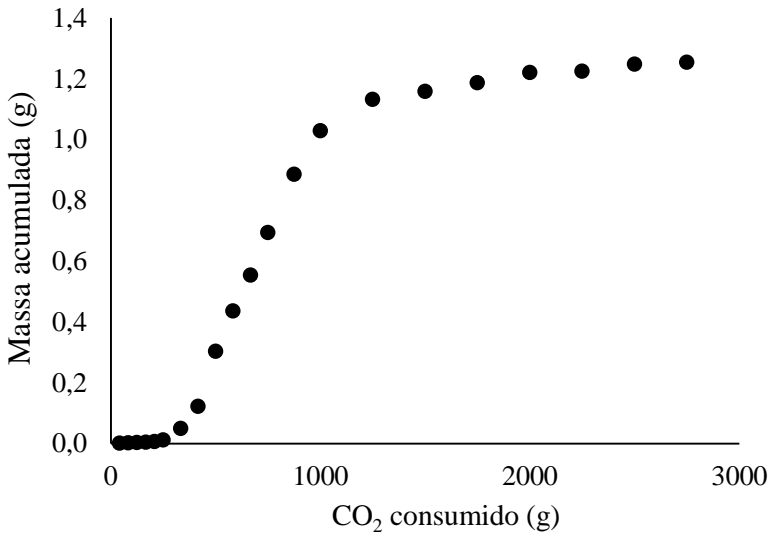


Figura 17: Consumo de CO₂ em função da massa de extrato obtida para ESC de torta de chia a 150 bar e 40 °C



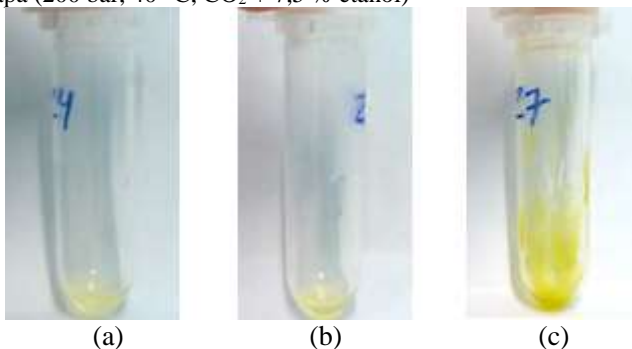
A etapa de despressurização rápida (DESP) apresentou um valor de rendimento alto, possivelmente pelas seguintes razões:

- a) Como sugerido por Albuquerque e Meireles (2012) e Meyer et al. (2012), durante a despressurização rápida ocorre o rompimento das células da matriz vegetal, proporcionando uma maior exposição do soluto, o que o torna mais disponível para a extração. O soluto exposto é extraído, solubilizando-se no CO₂ supercrítico de passagem, ou sendo carregado através de arraste, devido ao grande deslocamento de CO₂ durante a despressurização;
- b) Ainda devido ao grande deslocamento de CO₂ durante a despressurização, ocorre o arraste de extrato que estava preso na linha de extração.

Os rendimentos das segundas etapas de extração (a 200 bar e 50 °C com CO₂ puro e com CO₂ + cossolvente) apresentaram diferença significativa. A segunda etapa de extração utilizando CO₂ puro apresentou rendimento muito baixo, o que indica que após a despressurização rápida, não há mais componentes na matriz vegetal possíveis de serem extraídos por CO₂ supercrítico nas condições de 200 bar e 40 °C. Em contrapartida, ao utilizar etanol a 7,5 % como cossolvente na segunda etapa, houve aumento significativo no rendimento, o que indica que, mesmo após a despressurização, ainda estão presentes compostos polares na matriz vegetal passíveis de ser extraídos com a mistura CO₂ + etanol (7,5 %).

A Figura 18 mostra a diferença de coloração nos extratos obtidos na primeira etapa, utilizando CO₂ puro (a), etapa de despressurização (b) e na segunda etapa, utilizando mistura CO₂ e etanol (c).

Figura 18: Ilustração dos extratos obtidos nas diferentes etapas de extração sequencial de torta de chia: (a) 1ª etapa (150 bar e 40 °C); (b) despressurização; (c) 2ª etapa (200 bar, 40 °C, CO₂ + 7,5 % etanol)



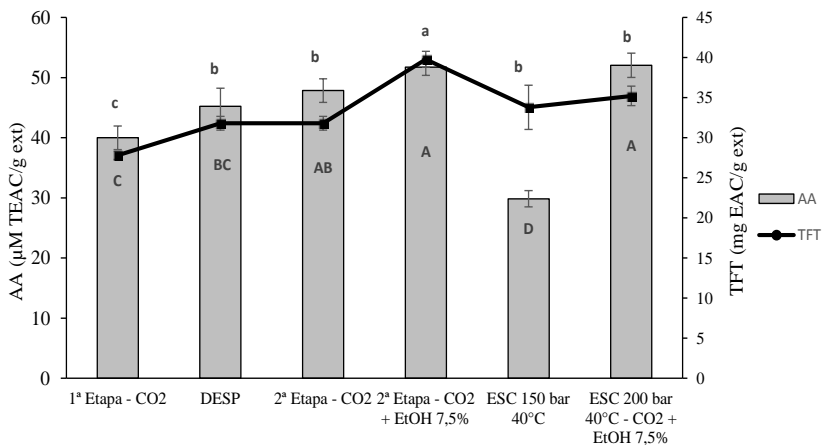
O valor de rendimento obtido e a diferença de coloração dos extratos de cada etapa é um indicativo de que a ESC-S utilizando cossolvente na segunda etapa foi eficiente na obtenção de extratos com diferentes composições a partir de uma mesma matriz vegetal. Esta diferença de coloração dos extratos nas diferentes etapas de ESC-S também foi notada por Salvador (2014).

4.8. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS OBTIDOS POR ESC-S

4.8.1. Determinação do teor de fenólicos totais (TFT) e atividade antioxidante (AA) pelo método ABTS

Os extratos obtidos por ESC-S tiveram sua qualidade avaliada através das análises de teor de fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ABTS. Os resultados de ambas as análises estão apresentados na Figura 19.

Figura 19: Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos de torta de chia obtidos por ESC e ESC-S



Letras iguais na mesma série de dados indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que: a) letras minúsculas indicam análise de TTF; b) letras maiúsculas indicam análise de AA.

Nas extrações sequenciais, o valor de TTF obtido na 2ª etapa de ESC-S, utilizando etanol a 7,5 % como cossolvente (40 ± 1 mg EAC/g extrato) forneceu valores de TTF significativamente superiores aos valores obtidos na 1ª etapa de ESC-S ($27,8 \pm 0,5$ mg EAC/g extrato), depressurização ($31,8 \pm 0,9$ mg EAC/g extrato) e 2ª etapa sem cossolvente ($31,8 \pm 0,9$ mg EAC/g extrato). O valor de TTF da 2ª etapa de ESC-S com etanol a 7,5% também foi significativamente superior ao valor obtido para ESC em etapa única a 200 bar e 40 °C utilizando etanol a 7,5 % (35 ± 1 mg EAC/g extrato) mostrando ser possível concentrar compostos fenólicos na segunda etapa de ESC-S utilizando etanol como cossolvente.

Na análise de atividade antioxidante pelo método ABTS, a 1ª etapa (que utiliza CO₂ puro a 150 bar a 40 °C) e a etapa de depressurização rápida forneceram extratos com valor de TEAC estatisticamente iguais entre si, porém significativamente superiores àqueles obtidos em ESC em etapa única (150 bar e 40 °C). Isso sugere que a extração de compostos com capacidade antioxidante na condição de 150 bar e 40 °C ocorre predominantemente até os primeiros 105 minutos (tempo total da primeira etapa de ESC-S). A 2ª etapa de extração utilizando etanol a 7,5 % forneceu extratos com valores de

TEAC estatisticamente iguais aos obtidos em ESC a 200 bar e 40 °C com etanol a 7,5 % e também aos extratos obtidos na 2ª etapa de ESC-S sem a utilização de cossolvente.

O fato de os extratos provenientes da 1ª etapa de extração (40 ± 2 $\mu\text{M TEAC/g ext}$) e da etapa de despressurização (45 ± 3 $\mu\text{M TEAC/g ext}$) fornecerem valores de TEAC estatisticamente superiores aos de extratos obtidos através de ESC em etapa única (30 ± 1 $\mu\text{M TEAC/g ext}$) torna a realização do processo até a etapa de despressurização muito interessante, pois reduz o tempo de extração e concentra o extrato em substâncias antioxidantes.

4.8.2. Perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos por extração supercrítica sequencial

Os extratos de torta de chia obtidos por ESC-S tiveram seu perfil de ácidos graxos analisado, através de cromatografia gasosa. Os dados são apresentados na Tabela 15.

Os extratos de torta obtidos na primeira etapa e etapa de despressurização de ESC-S apresentaram teores de todos os ácidos graxos estatisticamente iguais entre si, e iguais ao extrato obtido por ESC a 150 bar e 40 °C. Isso indica que a ESC-S, quando realizada até a etapa de despressurização, é capaz de produzir extratos com a mesma qualidade (em termos de ácidos graxos) que a que um processo de ESC a 150 bar e 40°C, cujo tempo de extração é o dobro.

Com relação aos extratos obtidos na segunda etapa de ESC-S utilizando EtOH a 7,5%, estes apresentaram teor de ácido palmítico estatisticamente inferiores ao de extratos obtidos por ESC a 200 bar e 40 °C utilizando 7,5% de EtOH, e extratos obtidos na primeira etapa e etapa de despressurização. É possível que algum dos outros ácidos graxos que compõe o extrato tenha sido extraído em maior quantidade nessa condição, o que diminuiria o valor da percentagem de ácido palmítico no extrato, visto que este teor é dado em percentagem relativa. Para todos os demais ácidos graxos, com exceção do ácido palmítico, os teores dos extratos obtidos na segunda etapa de ESC-S com EtOH a 7,5% foram estatisticamente iguais aos obtidos em ESC a 200 bar e 40 °C utilizando EtOH a 7,5%.

Tabela 15: Perfil de ácidos graxos de extratos de torta de chia obtidos através de ESC-S

Técnica de extração/solvente ou condição operacional ⁽¹⁾	Teor de ácido graxo (%) ⁽²⁾				
	Ácido palmítico (C16:0)	Ácido esteárico (C18:0)	Ácido oleico (C18:1)	Ácido linoleico (C18:2)	Ácido α -linolênico (C18:3)
ESC/150 bar 40 °C	7,81 ^a ±0,07	2,47 ^{ab} ±0,09	6,7 ^a ±0,6	19,8 ^a ±0,3	63 ^a ±1
ESC/200 bar 40°C, EtOH 7,5%	7,8 ^a ±0,8	2,34 ^{ab} ±0,09	6,3 ^a ±0,6	19,6 ^a ±0,1	63,90 ^a ±0,08
ESC-S/150 bar 40 °C (1 ^a et)	8,9 ^a ±0,3	1,7 ^b ±0,1	6,33 ^a ±0,07	19,5 ^a ±0,2	63,5 ^a ±0,4
ESC-S/Despressurização	8,6 ^a ±0,4	1,8 ^b ±0,4	6,1 ^a ±0,4	19,4 ^a ±0,3	64 ^a ±1
ESC-S/200 bar 40°C + EtOH 7,5% (2 ^a et)	5,8 ^b ±0,3	2,63 ^a ±0,01	6,7 ^a ±0,9	19,5 ^a ±0,5	65,3 ^a ±0,7

⁽¹⁾1^a Et: primeira etapa; 2^a Et: segunda etapa; ESC: extração supercrítica, ESC-S: extração supercrítica sequencial; ⁽²⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

4.8.3. Atividade antimicrobiana dos extratos obtidos por extração supercrítica sequencial

Os extratos obtidos através de ESC-S foram avaliados em termos de atividade antimicrobiana contra as bactérias *B. cereus* e *E. coli*. Inicialmente foi realizado o teste de difusão em ágar, com objetivo de selecionar os extratos que apresentaram potencial antimicrobiano e posteriormente determinar a concentração mínima inibitória (CMI). Os extratos obtidos na primeira etapa, etapa de despressurização e segunda etapa utilizando etanol a 7,5% de ESC-S foram selecionados, como pode ser observado na Tabela 16.

Assim como os extratos obtidos através de extrações a baixa pressão e ESC, os extratos obtidos por ESC-S não apresentaram atividade contra *E. coli*. Entretanto, todos os extratos de ESC-S apresentaram atividade contra *B. cereus*. Os extratos obtidos na primeira etapa e etapa de despressurização de ESC-S apresentaram valores de CMI iguais ou melhores do que os apresentados por extratos obtidos em ESC a 150 bar e 40 °C. Desta forma, percebe-se que estas duas etapas de ESC-S são capazes de gerar extratos com a mesma característica antimicrobiana do que os extratos obtidos em ESC a 150 bar e 40 °C, em um tempo de extração reduzido, o que representa mais uma vantagem da realização do processo de ESC-S até a etapa de despressurização rápida.

Tabela 16: Concentração mínima inibitória dos extratos obtidos ESC-S contra *B. cereus* e *E.coli*

Técnica de extração/condição operacional e solvente ⁽¹⁾	CMI (µg/mL)	
	<i>B. cereus</i>	<i>E.coli</i>
ESC / 150 bar, 40 °C	6.250	>50.000
ESC / 200 bar, 40°C, EtOH 7,5%	12.500	>50.000
ESC-S / 1ª Et 150 bar, 40 °C	3.125	>50.000
ESC-S / despressurização	6.250	>50.000
ESC-S / 2ª Et 200 bar, 50 °C, EtOH 7,5 %	25.000	>50.000

⁽¹⁾1ª Et: primeira etapa; 2ª Et: segunda etapa; ESC: extração supercrítica, ESC-S: extração supercrítica sequencial, em função das condições operacionais aplicadas.

4.9. MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem das curvas cinéticas de extração foi realizada para as condições: 150 bar e 40 °C, 200 bar e 50 °C e para extração sequencial utilizando CO₂ puro. O valor de solubilidade do extrato de chia no CO₂ supercrítico utilizado nas modelagens foi de $2,3 \cdot 10^{-3}$ g/g CO₂, determinado por Bozan e Temelli (2002). Foram empregados os modelos de: Sovová (1994) e de Martínez et al. (2003), baseados no balanço de massa diferencial; de Gaspar et al (2003), baseado na analogia à transferência de calor na partícula; e o de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999), análogo à equação cinética de crescimento de microrganismos de Monod.

4.9.1. Modelagem das curvas de ESC

A Tabela 17 apresenta os parâmetros de modelagem de cada modelo matemático aplicado e o erro médio quadrático (EMQ) referente ao ajuste dos modelos aos dados experimentais das curvas cinéticas (200 bar e 50 °C e 150 bar e 40 °C).

Tabela 17: Parâmetros de modelagem obtidos pela aplicação dos modelos matemáticos para as curvas de extração supercrítica de torta de chia

Modelo matemático	Parâmetros de modelagem ⁽¹⁾	Condições operacionais das curvas experimentais	
		200 bar/50°C/ 8,3 g/min	150 bar/40°C/ 8,3 g/min
Martínez et al. (2003)	b (min ⁻¹)	0,0374	0,0340
	t _m (min)	48,7099	70,9199
	EMQ	0,0006	0,0008
Sovová (1994)	t _{CER} (min)	80	105
	Xk	7,7233.10 ⁻⁵	0,0031
	k _{xa} (min ⁻¹)	0,0055	0,0058
	k _{ya} (min ⁻¹)	0,2474	0,2724
	EMQ	0,0049	0,0045
Esquível et al. (1999)	b	39,7718	29,6157
	EMQ	0,0466	0,0357
Gaspar et al. (2003)	D _m (m ² /min)	3,0517.10 ⁻¹⁰	3,5774.10 ⁻¹⁰
	EMQ	0,0337	0,0160

⁽¹⁾ b e t_m: parâmetros ajustáveis do modelo de Martínez et al. (2003); t_{CER}: duração da etapa CER; Xk: razão mássica de soluto de difícil acesso; k_{xa}: coeficiente de transferência de massa na fase sólida; k_{ya}: coeficiente de transferência de massa na fase fluida; b: parâmetro ajustável do modelo de Esquível et al. (1999), D_m: coeficiente de difusão; EMQ: erro médio quadrático.

Observando a Figura 20 e Figura 21 e os valores de EMQ da Tabela 17, percebe-se que o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais das curvas de 200 bar e 50 °C, e de 150 bar e 40 °C, foi o modelo de Martínez et al. (2003).

Figura 20: Curva experimental e modelada da extração supercrítica de torta de chia a 200 bar e 50°C

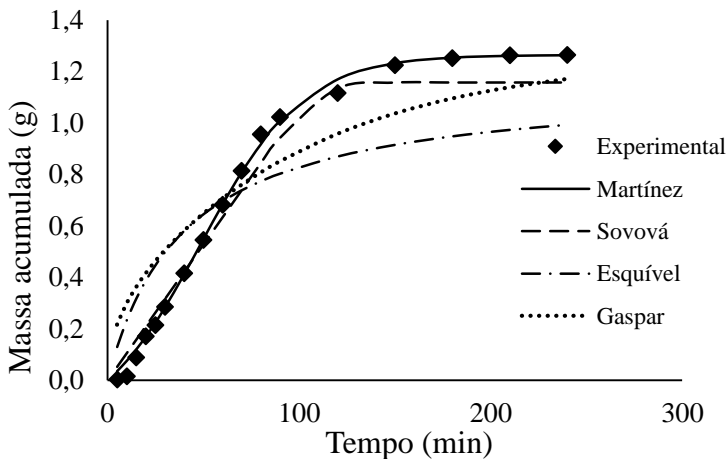
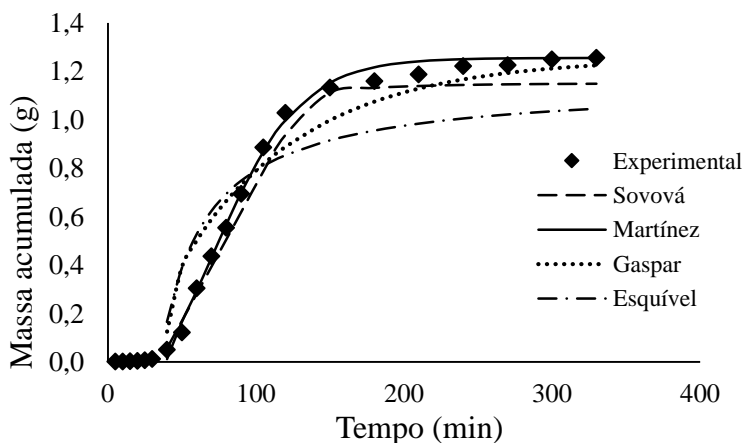


Figura 21: Curva experimental e modelada da extração supercrítica da torta de chia a 150 bar e 40°C



O parâmetro ajustável t_m corresponde ao tempo em que a taxa de extração é máxima. Neste caso, para a curva de 200 bar e 50 °C, t_m é aproximadamente 49 min. Para a curva de 150 bar e 40 °C, o parâmetro t_m tem valor de aproximadamente 71 min.

O modelo de Martínez et al. (2003) necessita como parâmetro inicial para a modelagem matemática apenas a massa de soluto inicial e o raio da partícula sólida, o que facilita a utilização deste modelo.

O modelo de Sovová (1994) também apresentou um bom ajuste para as curvas das duas condições apresentadas. Este modelo apresenta bons resultados quando as curvas experimentais possuem a transição do período CER para o período FER bem delimitada. Sua principal vantagem é a descrição dos fenômenos de transferência de massa envolvidos no processo de ESC, sendo que seus parâmetros ajustáveis apresentam um claro significado físico (BENELLI, 2010). A aplicação do modelo de Sovová (1994) é limitada a sistemas onde a solubilidade é conhecida na pressão e temperatura empregadas na extração (SOUSA et al., 2005). É possível que a diferença encontrada entre os dados experimentais e a curva modelada, especialmente na etapa difusional, esteja relacionada com a utilização de um valor de solubilidade inadequado, embora os dados de literatura sejam referentes a um produto com composição bastante semelhante ao deste estudo.

O parâmetro $k_{y,a}$ é definido como o coeficiente de transferência de massa na fase fluida, sendo diretamente afetado pela velocidade de escoamento do fluido, que por sua vez aumenta com o aumento da vazão de solvente (SOVOVÁ; KUCERA; JEZ, 1994; MICHIELIN et al., 2005; CAMPOS et al., 2008; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009). Já o valor de $k_{x,a}$ é definido como o coeficiente de transferência de massa na fase sólida e não sofre a influência da vazão do solvente, pois é representado pela difusão do CO₂ e da mistura de CO₂+soluto no interior das partículas de matéria-prima (BENELLI, 2010).

Os valores dos coeficientes de transferência de massa na fase fluida ($k_{y,a}$) para ambas as condições (200 bar e 50 °C e 150 bar e 40 °C) foram superiores aos valores dos coeficientes de transferência de massa na fase sólida ($k_{x,a}$) (Tabela 17). Um baixo valor de $k_{x,a}$ indica que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado com a convecção (MARTÍNEZ et al., 2003). Este fenômeno ocorre devido ao soluto exposto na superfície da matriz possuir maior facilidade de ser dissolvido, já o soluto retido no interior da matriz necessita de um tempo maior para difundir-se até a superfície e então ser solubilizado pela fase fluida. No caso da extração de óleo da torta de

chia, o diâmetro de partícula de torta de chia utilizada pode ser muito alto, o que dificulta a transferência de massa por difusão, tornando a convecção o mecanismo predominante.

Os modelos de Gaspar et al. (2003) e Esquível et al. (1999) não apresentaram ajustes satisfatórios para nenhuma das duas condições analisadas. O modelo proposto por Gaspar et al. (2003) considera que o processo de extração é controlado somente pela difusão. Este modelo apresentou valores elevados para os EMQ, quando comparados aos outros modelos avaliados, possivelmente por desconsiderarem o mecanismo de transferência de massa por convecção (CAMPOS et al., 2005) e que, segundo os resultados do modelo de Sovová (1994) se mostrou ser o processo de transferência de massa mais representativo na ESC de torta de chia. O modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) descreve a curva global de extração de uma forma hiperbólica, característica de sistemas onde o soluto tem um fácil contato com o solvente e assim é extraído facilmente (SOUSA et al., 2005). É possível que o modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) não tenha fornecido ajuste satisfatório devido ao fato de a torta de chia não possuir teor de óleo tão elevado. No trabalho realizado por Mezzomo, Martínez e Ferreira (2009) com a amêndoa de pêssego, o modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) proporcionou um bom ajuste, visto que a amêndoa de pêssego possui um teor de lipídios de $25\% \pm 2$, ou seja, quase o dobro do teor de óleo da torta de chia. No modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999), os efeitos termodinâmicos e de transferência de massa são representados por um único parâmetro ajustável (b) e, assim, não é possível verificar a influência dos diferentes mecanismos na descrição da curva de extração.

4.9.2. Modelagem das curvas de ESC-S

A Figura 22 e Figura 23 apresentam as curvas de ESC-S de torta de chia modeladas, respectivamente, referentes a 1ª e 2ª etapa de extração sequencial, realizadas nas condições de 150 bar e 40 °C e 200 bar e 40 °C. A Tabela 18 contém os resultados da aplicação dos modelos (parâmetros cinéticos de cada modelo) e o erro médio quadrático (EMQ) referente ao ajuste dos modelos aos dados experimentais.

Observando a Figura 22 e Figura 23, e os dados de EQM da Tabela 18, os modelos que melhor se ajustaram aos dados experimentais foram o modelo de Martínez et al. (2003) e de Sovová (1994).

O parâmetro ajustável t_m , correspondente ao tempo de máxima extração, apresentou valor de aproximadamente 68 minutos para a 1ª etapa. Na curva da segunda etapa de extração, o parâmetro ajustável t_m apresentou valor negativo para a curva modelada, perdendo seu significado físico. Neste caso, a taxa de extração é decrescente, ou seja, apresenta o valor máximo apenas no instante inicial da extração (MARTÍNEZ et al., 2003), o que é bastante plausível, visto que na segunda etapa de extração o extrato está em presente em pequena quantidade na matriz vegetal, o que aumenta a dificuldade de extraí-lo.

Tabela 18: Parâmetros de modelagem obtidos pela aplicação dos modelos matemáticos para as curvas de extração supercrítica sequencial de torta de chia

Modelo matemático	Parâmetros de modelagem ⁽¹⁾	Condições operacionais das curvas experimentais	
		1ª Etapa, 150 bar/ 40°C/8,3g/min	2ª Etapa, 200 bar/ 40°C/8,3 g/min
Martínez et al. (2003)	b (min ⁻¹)	0,0255	0,0281
	t _m (min)	67,6899	-62,3600
	EMQ	0,0004	3,5963.10 ⁻⁶
Sovová (1994)	t _{CER} (min)	105	130
	Xk	0,0113	0,0023
	k _{x,a} (min ⁻¹)	0,0051	0,0111
	k _{y,a} (min ⁻¹)	0,2995	0,0180
	EMQ	0,0026	8,0075.10 ⁻⁶
Esquível et al. (1999)	b	56,7684	23,3226
	EMQ	0,0069	1,8251.10 ⁻⁵
Gaspar et al. (2003)	D _m (m ² /min)	2,0055.10 ⁻¹⁰	5,7799.10 ⁻¹⁰
	EMQ	0,0132	1,3922.10 ⁻⁵

⁽¹⁾ b e t_m: parâmetros ajustáveis do modelo de Martínez *et al.* (2003); t_{CER}: duração da etapa CER; Xk: razão mássica de soluto de difícil acesso; k_{x,a}: coeficiente de transferência de massa na fase sólida; k_{y,a}: coeficiente de transferência de massa na fase fluida; b: parâmetro ajustável do modelo de Esquível et al (1999), D_m: coeficiente de difusão; EMQ: erro médio quadrático.

Figura 22: Curva experimental e modelada da primeira etapa de extração supercrítica sequencial de torta de chia a 150 bar e 50°C

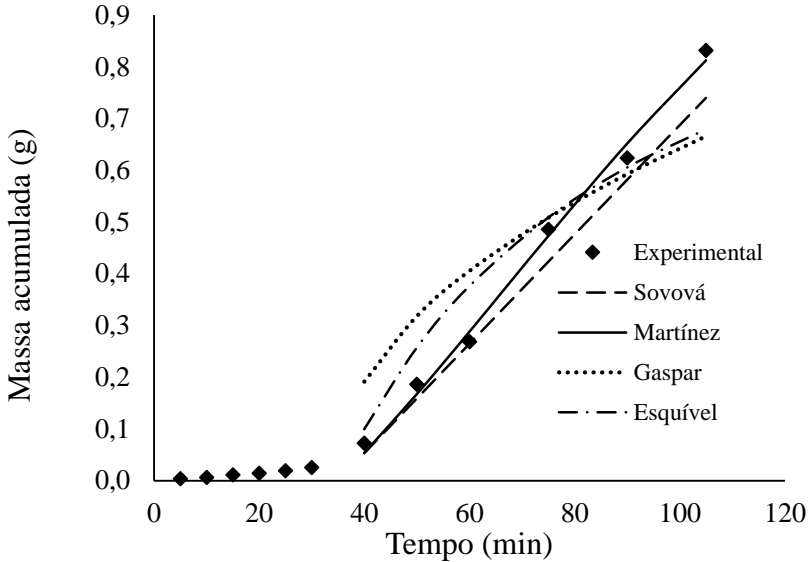
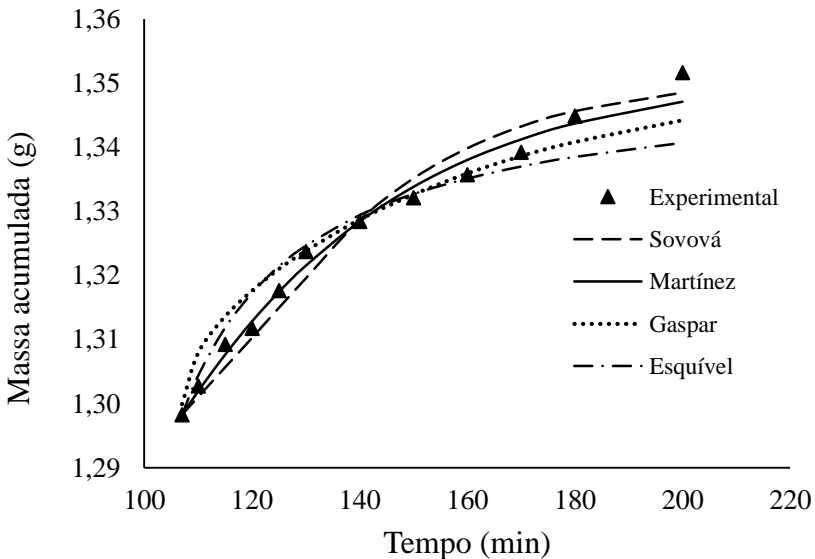


Figura 23: Curva experimental e modelada da segunda etapa de extração supercrítica sequencial de torta de chia a 200 bar e 50°C



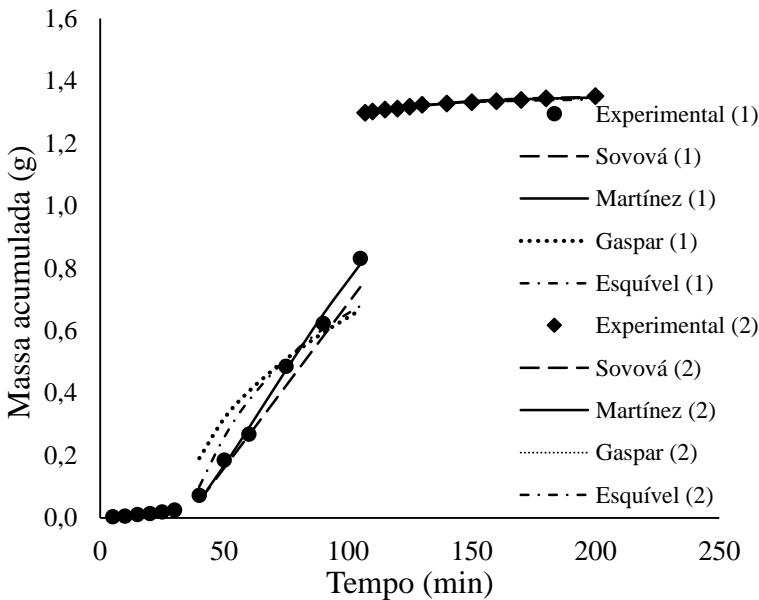
O modelo de Sovová (1994) também apresentou um bom ajuste aos dados de ambas as curvas, principalmente para a curva da 2ª etapa. Para a primeira etapa de ESC-S, assim como na ESC a 150 bar e 40 °C, o valor de $k_{y,a}$ foi maior do que o valor de $k_{x,a}$, indicando que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado com a convecção. Este comportamento é esperado, visto que a primeira etapa de ESC-S também é realizada a 150 bar e 40 °C. Já a segunda etapa da ESC-S apresentou valores de $k_{y,a}$ e $k_{x,a}$ bastante próximos, apesar de $k_{y,a}$ ainda apresentar valor levemente superior. Quando o solvente está disponível em grande quantidade na matriz vegetal, o soluto exposto na superfície da matriz possui maior facilidade de ser dissolvido, enquanto o soluto retido no interior da matriz precisa difundir-se até a superfície e só então ser solubilizado pela fase fluida. Desta forma, a transferência de massa por convecção se sobrepõe à transferência por difusão. No caso da segunda etapa de ESC-S, o solvente está em pequena quantidade na matéria-prima, não estando altamente disponível na superfície externa da matriz. Assim, a transferência de massa por difusão torna-se mais importante, o que justifica o aumento do valor de $k_{x,a}$, em comparação com o valor deste parâmetro para a primeira etapa de ESC-S. Já a transferência de massa por convecção não ocorre mais com tanta intensidade na segunda etapa pelo fato de a superfície da matriz estar mais pobre em soluto, o que explica a redução no valor de $k_{y,a}$ em comparação com a primeira etapa de extração.

Os modelos de Gaspar et al (2003) e Esquível et al (1999) novamente apresentaram os ajustes menos satisfatórios para os dados experimentais da ESC-S, com exceção do modelo de Esquível para a curva da primeira etapa de ESC-S, que apresentou valor de EMQ próximo do valor apresentado pelo ajuste com modelo de Sovová (1994). Como já citato anteriormente, o modelo de Esquível et al. (1999) descreve bem sistemas onde o soluto tem um fácil contato com o solvente e assim é extraído mais facilmente, o que explica por que este modelo descreveu melhor a curva da primeira etapa do que a da segunda. Como no modelo de Esquível et al. (1999), os efeitos termodinâmicos e de transferência de massa são representados por um único parâmetro ajustável (b), não é possível verificar a influência dos diferentes mecanismos na descrição da curva de extração. O modelo proposto por Gaspar et al. (2003) considera que o processo de extração é controlado somente pela difusão. Mesmo para a segunda etapa, que sofre uma influência maior da transferência de massa por difusão, o modelo de Gaspar et al.(2003) não forneceu um bom ajuste, o que

significa que não se pode desprezar em nenhum momento o mecanismo de convecção nas duas etapas de ESC-S.

A Figura 24 apresenta a curva cinética modelada completa de ESC-S.

Figura 24: Curva experimental e modelada supercrítica sequencial da torta de chia, sendo: ● = primeira etapa a 150 bar e 40 °C; ◆ = segunda etapa, após depressurização rápida, a 200 bar e 40 °C.



A modelagem das curvas de ESC é uma ferramenta que possibilita a otimização de projetos e aumento de escala, como a definição do volume do extrator, rendimento e predição do comportamento da extração ao longo do processo, como o tempo de extração para uma dada condição operacional (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009).

4.10. ESTIMATIVA DE CUSTOS DE MANUFATURA

A estimativa de custos de manufatura da extração supercrítica de óleo de torta de chia foi realizada para todas as condições de ESC e

para o processo de ESC-S realizado até a etapa de despressurização rápida (ESC-Desp). Desta forma, considerou-se que a razão m/Q_{CO_2} apresenta valor constante, onde m é a massa de matéria-prima utilizada e Q_{CO_2} é a vazão de solvente supercrítico. A vazão utilizada é de 0,5 kg/h (8,3 g/min) e a massa utilizada é de 0,015 kg. A razão entre estes dois parâmetros dá um valor de 0,03 h. O volume do extrator proposto para a unidade é de 500 L. Conhecendo a densidade da matéria-prima, é possível calcular a massa de matéria-prima a ser utilizada, que resultou num valor de 235,2 kg. Utilizando a relação $m/Q_{CO_2} = 0,03$ h e sabendo que o valor de $m = 235,2$ kg, obtém-se o valor de $Q_{CO_2} = 7840$ kg/h para a vazão de CO_2 .

O investimento inicial consiste numa estimativa do preço de duas unidades comerciais ESC, ambas compostas por duas colunas de 500 L. Neste sistema, a extração é realizada em uma coluna, enquanto a outra coluna é limpa e novamente preenchida com matéria-prima, o que permite que o processo possa ser conduzido sem interrupções. O valor de US\$ 1.150.000,00 das colunas de ESC foi estimado por Prado (2009), no mercado chinês. A Tabela 19 apresenta os custos com investimento, matéria-prima, mão de obra, utilidades, tratamento de resíduos e custo de manufatura de cada condição de processo de ESC. A Tabela 20 apresenta os dados de massa de extrato obtida e custo específico do extrato. Todos os parâmetros são calculados baseando-se no período de tempo de um ano, considerado 7920 horas de trabalho.

Observando os dados obtidos através do cálculo de custos envolvidos no processo de extração supercrítica de uma unidade industrial, percebe-se que o aumento da temperatura de extração, quando a pressão é mantida constante, não altera o valor do custo de utilidades (CUT). Isso pode ser explicado através do ciclo do CO_2 no sistema. A energia necessária (ΔH) para que o trocador de calor aqueça o CO_2 até a temperatura de 50 °C é maior do que a energia necessária para aquece-lo até 40 °C. Porém, a etapa de separação flash da mistura CO_2 e extrato, que ocorre após a extração, necessita de um ΔH igualmente menor quando a extração ocorre a 50 °C, quando comparado ao mesmo processo a 40 °C. Desta forma, o aumento e a redução do ΔH nas duas etapas se compensam, e como ambas fazem uso de vapor saturado (mesmo custo específico), o custo é mantido constante. Já com o aumento de pressão, ocorre o aumento do CUT. Quanto maior a pressão que deseja-se trabalhar, maior é a energia necessária para o funcionamento da bomba, e também maior é a energia gasta no processo de separação *flash*. Custo com investimentos (FCI) e com mão de obra (COL) não sofrem nenhuma alteração com mudanças na

temperatura e na pressão de processo. O CWT, como já citado, é considerado nulo pois o único resíduo gerado é o próprio sólido que sofreu extração, que pode ainda ser comercializado como matéria-prima para outros processos (ração animal, por exemplo). O custo com matéria-prima nas ESC em etapa única manteve-se constante, já que o tempo de extração é mantido constante.

Tabela 19: Custos de processo para cada condição de extração supercrítica de torta de chia avaliada

Pressão (bar)/ Temperatura (°C) ⁽¹⁾	FCI (US\$/ano)	CRM (US\$/ano)	COL (US\$/ano)	CUT (US\$/ano)	COM (US\$/ano)
150/40	322.000,00	240.102,24	151.999,85	456.221,07	1.170.323,16
150/50	322.000,00	240.102,24	151.999,85	456.221,07	1.170.323,16
200/40	322.000,00	240.102,24	151.999,85	506.775,70	1.220.877,79
200/50	322.000,00	240.102,24	151.999,85	506.775,70	1.220.877,79
250/40	322.000,00	240.102,24	151.999,85	524.461,30	1.238.563,38
250/50	322.000,00	240.102,24	151.999,85	524.461,30	1.238.563,38
300/40	322.000,00	240.102,24	151.999,85	544.421,56	1.258.523,65
300/50	322.000,00	240.102,24	151.999,85	544.421,56	1.258.523,65
150/40 (ESC-Desp)	322.000,00	251.082,05	151.999,85	456.221,07	1.181.302,97

⁽¹⁾ ESC-Desp: Extração supercrítica sequencial realizada até a etapa de despressurização rápida; ⁽²⁾ FCI: Fração de investimento; CRM: custo com matéria-prima; COL: custo com trabalho operacional; CUT: custo com utilidades; COM: Custo de manufatura.

A avaliação econômica da ESC-Desp foi feita considerando que a extração ocorre durante 105 min e a massa final total de extrato é obtida após o término da despressurização rápida. A despressurização do sistema ocorre após o suprimento de CO₂ ser fechado, da mesma forma que nas outras extrações, porém com uma taxa de queda de pressão muito mais elevada. Observa-se que o CRM da ESC-Desp é maior do que o de ESC a 150 bar e 40 °C. Isso ocorre devido ao maior custo com moagem necessário na ESC-Desp, relativo a maior preparação de matéria-prima, ou seja, como os tempos da ESC-Desp são menores, em um mesmo período de operação da unidade pode ser realizado um maior de extrações, requerendo uma maior quantidade de matéria-prima. Não há custo com a compra da matéria-prima em si, por se tratar de um subproduto gerado e reaproveitado pela própria indústria de óleo de chia, portanto só o processo de moagem influencia neste aumento. A quantidade de CO₂ envolvida durante uma batelada do processo de ESC-Desp é muito menor do que em um processo de ESC, porém, o tempo de extração não influencia na quantidade de CO₂ gasta durante um ano, visto que considera-se que o tempo de operação é fixo em 7920 h/ano. Como em um mesmo tempo de operação a ESC-Desp processa mais matéria-prima (mais extrações, com menor tempo de cada), é produzida uma quantidade de extrato muito superior às ESC, o que torna o preço específico do extrato muito menor (Tabela 20). Tudo isso é possível graças ao fato de que a despressurização rápida proporciona à ESC-Desp a 150 bar e 40°C em 105 min um rendimento semelhante ao rendimento obtido em processo de ESC 150 bar 40 °C em 210 min de extração (conforme detalhado no item 4.7.). Analisando e comparando os custos específicos das ESC, o processo a 150 bar 50 °C possui um rendimento bastante inferior aos demais, que reflete nitidamente na quantidade de extrato obtida e no maior preço específico do extrato observado (Tabela 20).

Tabela 20: Massa de extrato obtida em um ano de produção e custo específico do extrato para cada condição de extração supercrítica de torta de chia avaliada

Pressão (bar)/ Temperatura(°C) ⁽¹⁾	Massa de extrato (kg)	Custo específico (US\$/kg)
150/40	45.611,59	25,66
150/50	26.345,09	44,42
200/40	45.558,37	26,80
200/50	44.760,04	27,28
250/40	49.975,83	24,78
250/50	51.519,28	24,04
300/40	49.496,83	25,43
300/50	56.202,85	22,39
150/40 (ESC-Desp)	92.926,31	12,71

⁽¹⁾ ESC-Desp: Extração supercrítica sequencial realizada até a etapa de depressurização rápida.

Os extratos obtidos na primeira etapa de ESC-S a 150 bar e 40 °C e na etapa de depressurização rápida possuem a mesma qualidade que extratos obtidos por ESC a 150 bar e 40 °C, em termos de atividade antioxidante, teor de fenólicos, perfil de ácidos graxos e ensaios microbiológicos (resultados apresentados e detalhados no item 4.8.). Economicamente, a obtenção de extratos de torta de chia através de ESC-Desp mostra-se bastante vantajosa com relação aos processos de ESC, graças a redução de 50% do tempo de extração.

A Figura 25 e Figura 26 apresentam a relação entre os diferentes custos que compõem o custo de manufatura do extrato de chia no processo de ESC 150 bar a 40 °C e ESC-Desp 150 bar a 40 °C.

Figura 25: Contribuição percentual dos custos de processo de ESC da torta de chia a 150 bar e 40 °C

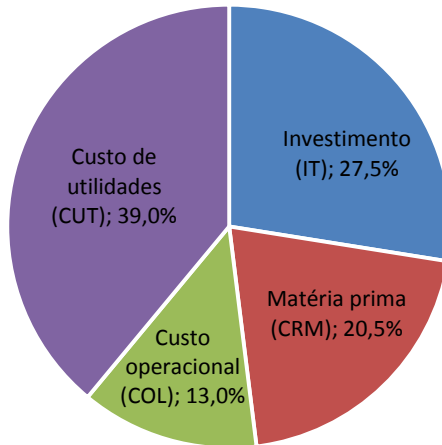
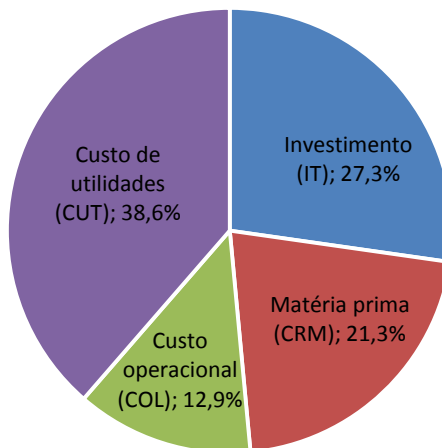


Figura 26: Contribuição percentual dos custos de processo de ESC-Desp da torta de chia a 150 bar e 40 °C



Para ambos os processos, as frações apresentam representatividade muito parecidas, dentro do COM, sendo custo com utilidades o mais representativo. O alto custo de utilidades (CUT) está relacionado ao aporte de energia necessário para o funcionamento da bomba, água de resfriamento e vapor saturado para cada ciclo de extração (AGUIAR, 2012). O fato do custo com investimento não ser o custo predominante do COM, indica que o crescimento da tecnologia de ESC, aliado ao maior conhecimento e tecnologia por parte dos fabricantes, tem tornado os equipamentos mais acessíveis (AGUIAR, 2012).

A Tabela 21 apresenta valores de mercado para óleo de chia, no Brasil. Os valores apresentados são maiores do que o custo específico do extrato de torta de chia obtido através da estimativa de custos. Como já observado na Tabela, o processo menos custoso para a extração do óleo de chia avaliado no presente trabalho, é o processo de ESC-Disp, que gera um valor específico de US\$ 12,71/kg. Sabe-se que o valor dos produtos apresentados na Tabela 21 é referente ao produto embalado, pronto para ser comercializado, mas, considerando o menor valor de mercado encontrado (US\$ 69,96/kg), é possível saber que a diferença entre o custo de fabricação do óleo de chia por ESC-Disp e o valor de óleo de chia comercial seria de aproximadamente US\$ 57,25/kg (450 % mais elevado).

Tabela 21: Valores de mercado para óleo de chia comercial

Produto	Valor (US\$/kg)	Fonte
Óleo de chia	69,96	Giroil (2014)
Óleo de chia	76,70	Nutrima (2014)
Óleo de chia	78,71	Ekosul (2014)

5. CONCLUSÕES

A torta de chia mostrou ser uma matéria-prima com potencial para a obtenção de compostos de valor biológico, como antioxidantes e ácidos graxos essenciais, principalmente ácido linoleico e α -linolênico, o que justifica o aproveitamento deste resíduo.

Todas as condições de ESC de torta de chia, com exceção da condição de 150 bar e 50°C apresentaram bons rendimentos, estatisticamente iguais àqueles obtidos através das técnicas maceração e ultrassom utilizando EtOH, Hex e EtOAc. A extração em Soxhlet com EtOH apresentou o maior rendimento de extração.

Os extratos obtidos por extração a baixa pressão apresentaram os melhores valores de TFT e atividade antioxidante, com destaque para os extratos obtidos em Soxhlet com EtOH e maceração e ultrassom com EtOAc. Entre as ESC, a condição de 200 bar e 40°C gerou os melhores resultados de atividade antioxidante, estatisticamente igual ao resultado obtido para extratos obtidos em ultrassom com hexano, justificando a escolha desta condição para os ensaios de ESC com cossolvente.

O perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos a baixa pressão e em ESC de forma geral apresentou valores coerentes com a literatura, com pouca ou nenhuma variação significativa entre as técnicas de extração utilizadas. Foi notado o alto teor dos ácidos linoleico e α -linolênico em todos os extratos analisados, o que torna os extratos extremamente interessantes do ponto de vista nutricional.

Os extratos obtidos em baixa pressão e em ESC apresentaram atividade contra o microorganismo *B. cereus*, sendo que os extratos obtidos por ESC apresentaram valores menores de CMI.

A adição de cossolvente aumentou o rendimento e influenciou positivamente no valor de TFT e atividade antimicrobiana dos extratos. Entre as ESC que utilizaram cossolvente, apenas a condição de 200 bar 40 °C EtOH 2,5% gerou extratos que não apresentaram atividade antimicrobiana.

A realização do processo de ESC-S com despressurização rápida foi muito satisfatória com relação aos rendimentos de extração. A realização do processo até a etapa de despressurização (ESC-Desp) gera uma grande economia de tempo de processo e de consumo de CO₂, o que torna possível o aumento da produção de extrato em um menor tempo de extração e menor consumo de CO₂. O extrato produzido neste tipo de processo possui as mesmas características em termos de TFT, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos e atividade antimicrobiana, do que extratos produzidos sem a etapa de

despressurização, necessitando de um tempo maior de extração. Através da estimativa de custos este processo provou ser não somente viável, mas lucrativo quando comparado ao óleo de chia disponível atualmente no mercado nacional. O custo mais representativo dentro do custo de manufatura foi o custo com utilidades, visto que é necessária uma grande quantidade de energia para manter a unidade em funcionamento. O custo com investimento ficou em segundo lugar, mostrando que a tecnologia supercrítica tem se tornado mais acessível.

A segunda etapa de ESC-S utilizando EtOH 7,5% proporcionou o aumento do teor de fenólicos totais dos extratos, mostrando que a ESC-S torna possível a obtenção de diferentes frações de extratos, ricas em diferentes compostos.

A modelagem do processo de ESC-S comprovou que o mecanismo de difusão tornou-se mais importante na segunda etapa de extração, onde a disponibilidade de óleo é menor. Na primeira etapa de ESC-S, assim como nas condições de ESC de 200 bar e 50°C e 150 bar e 40 °C, o mecanismo de transferência de massa dominante foi a convecção, devido a maior disponibilidade de óleo na superfície da matriz. O modelo que melhor se ajustou a curva foi o modelo de Martínez et al. (2003).

A torta de chia mostrou ser uma matéria-prima potencial para obtenção de compostos de extratos com capacidade antioxidante e antimicrobiana, contendo compostos de alto valor biológico como ácidos graxos ω -3 e ω -6 e compostos fenólicos, o que justifica o aproveitamento deste resíduo.

SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- a) Extrações convencionais utilizando misturas de solventes;
- b) Avaliação da composição dos extratos através de outras técnicas cromatográficas;
- c) Avaliação do potencial antioxidante in vivo dos extratos, empregando culturas de células endoteliais;
- d) Verificação da atividade antitumoral dos extratos;
- e) Realização de ensaios da segunda etapa de ESC-S em pressões acima de 200 bar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEROUMAND, A.; DEOKULE, S. S. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 7, p. 582-5, 2008.
- ADIL, I. H.; ÇETIN, H. I.; YENER, M. E.; BAYINDIRLI, A. Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 43, p. 55-63, 2007.
- 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.
- AGUIAR, A. C.; VISENTAINER, J. V.; MARTÍNEZ, J. Extraction from striped weakfish (*Cynoscion striatus*) wastes with pressurized CO₂: Global yield, composition, kinetics and cost estimation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 71, p. 1–10, 2012.
- ALBUQUERQUE, C. L. C.; MEIRELES, M. A. A. Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin: Experimental, modeling and economic evaluation of the process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 86–95, 2012.
- ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G.; The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of biomedicine and biotechnology**, v. 2012, 2012.
- ALMEIDA, P. P. DE; FERREIRA, S. R. S. Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil with pure CO₂ and CO₂ plus ethanol. In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA). **Caderno de Resumos do PROSCIBA**, Foz do Iguaçu, 2007.

ALU'DATT, M. H.; RABABAH, T.; EREIFEJ, K.; ALLI, I. Distribution, antioxidant and characterization of phenolic compounds in soybeans, flaxseed and olives, **Food Chemistry**, v. 139, p. 93-99, 2013.

AMAROWICZ, R.; NACZK, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of various fractions of non-tannin phenolics of canola hulls, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2755-2759, 2000.

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arabica* L).** 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

ANDRADE, K. S.; GONÇALVEZ, R. T.; MARASCHIN, M.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544-552, 2012.

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

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2005.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society.** Champaign: AOCS Press. Ce 1-62, 2003.

ÁVILA, H.; SMÂNIA, E.; MONACHE, F.; SMÂNIA JUNIOR, A. Structure-activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16: p. 9790- 9794, 2008.

AYERZA, R. Oil content and fatty acid composition of oil of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v.72, p.1079-1081, 1995.

AYERZA, R.; COATES, W. Chia seeds: New source of omega-3 fatty acids, natural antioxidants, and dietetic fiber. Tucson, Arizona, USA: Southwest Center for Natural Products Research & Commercialization, **Office of Arid Lands Studies**, v.3, 2001.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração.** 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA JR, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S.; Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p.132-141, 2010.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, p. 645- 656, 1988.

BISCAIA, D. **Comparação entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas atividades biológicas.** 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BISCAIA, D.; FERREIRA, S. R. S. Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 17-23, 2009.

BITENCOURT, R. G.; QUEIROGA, C. L.; JUNIOR, I. M.; CABRAL, F. A. Fractionated extraction of saponins from Brazilian ginseng by sequential process using supercritical CO₂, ethanol and water. **The Journal of supercritical Fluids**, v. 92, p.272–281, 2014.

BOUSSAADA, O.; AMMAR, S.; SAIDANA, D.; CHRIAA, J.; CHRAIF, I.; DAAMI, M.; HELAL, A. N.; MIGHRI, Z., Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from

capitula and aerial parts of *Rhaponticum acaule* D. C. growing wild in Tunisia. **Microbiological Research**, v, 163, p. 87-95, 2008.

BOZAN, B.; TEMELLI, F. Supercritical CO₂ Extraction of Flaxseed. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v.79, p. 231–235, 2002.

BRANDI, M. L. Flavonoids: biochemical effects and therapeutic applications. **Bone and Mineral**, v. 19, p. S3-S14, 1992.

BRUNNER, G. **Gas Extraction**: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. New York: Springer, 1994. 386 p.

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

BUSHWAY, A. A., BELYEA, P. R., BUSHWAY, R. J. Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1349–1350, 1981.

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

CAMPOS, L. M. A. S.; LEIMANN, F. , V.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v.99, p. 8413-20, 2008.

CAPITANI, M. I.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; Physicochemical and functional characterization of byproducts from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. **Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 94–102, 2012.

CÁRCEL, J. A.; PÉREZ, J. V. G.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 200–207, 2012.

CASAS, L.; MANTELL, C.; RODRÍGUEZ, M.; TORRES, A.; MACÍAS, F. A.; DE LA OSSA, E. M. Effect of the addition of cosolvent on the supercritical fluid extraction of bioactive compounds from *Helianthus annuus* L. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 41, p. 43-49, 2007.

CETIN-KARACA, H. **Evaluation of natural antimicrobial phenolic compounds against foodborne pathogens**. 2011. Master's theses. College of Agriculture - University of Kentucky, Lexington, 2011.

CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18 p. 813–835, 2011.

CHRASTIL, J. Solubility of solids and liquids in supercritical gases. **Journal of Physical Chemistry**, v.86, p.3016-3021, 1982.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p.1033–1043, 2000.

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

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex standard for named vegetable oils**, codex stan 210-1999, p.1-16, 1999.

COELHO, M.S.; SALAS-MELLADO, M.M., Chemical Characterization of CHIA (*Salvia hispanica* L.) for Use in Food Products. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 2, n. 5, p. 263–269, 2014.

CORTESI, A.; KIKIC, I.; ALESSI, P.; TURTOI, G.; GARNIER, S. Effect of chemical structure on the solubility of antioxidants in supercritical carbon dioxide: experimental data and correlation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 139-144, 1999.

CORREIA, J.; MICHIELIN, E. M. Z.; FERREIRA, S. R. S. **Estudo de modelos de transferência de massa para processos de extração supercrítica**. 2006. Relatório (Iniciação Científica PIBIC- CNPQ),

Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

CRAIG, R. **Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole seed as novel food ingredient.** Food Standard Agency, UK. Commission Decision 2009/827/EC Company Representative Mr. D. Armstrong, Northern Ireland, 2004.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion.** Oxford: Clarendon Press, 1975.

CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, F. M.; SHIMIZU, M. T.; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S.; CARVALHO, P. O. Factors that Influence the Yield and Composition of Brazilian Propolis Extracts. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v.15, n. 6, p. 964-970, 2004.

DE ANGELIS, R.C. **Conceitos de Nutrientes não tradicionais: A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde.** Belo Horizonte: Atheneu, 2001. p.75-79.

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

DUARTE, M. C. T.; LEME, E. E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A. A., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 197-201, 2007.

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

DURÁN, R. M.; PADILLA, B. **Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.** Grasas y Aceites, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

EARLE, F. R.; MC GUIRE, T. A.; MALLAN, J.; BAGBY, M. O.; WOLF, I. A. Search for new industrial oils. Part 2. Oils with high iodine values. **Journal of American Chemists' Society**, v.37, p.48, 1960.

EKOSUL, **Loja online**. Disponível em: www.ekosul.net.br. Acesso em 10/08/2014.

ESCLAPEZ, M. D.; PÉREZ, J. V. G.; MULET, A.; CÁRCEL, J. A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, p.108–120, 2011.

ESQUÍVEL, M. M.; BERNARDO-GIL, M. G.; KING, M. B. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.16, p. 43-58, 1999.

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. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 235-45, 1999.

FERRI, P. H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996. cap. 10, p.129-156.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos**. 2007. Tese (Doutorado em química) Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

GARMUS, T. T.; PAVIANI, L. C.; QUEIROGA, C. L.; MAGALHÃES, P. M.; CABRAL, F. A. Extraction of phenolic compounds from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents, **The Journal of Supercritical Fluids**, v.86, p.4–14, 2014.

GASPAR, F.; LU, T.; SANTOS, B.; AL-DURIN, B. Modeling the extraction of essential oils with compressed carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.25. n. 3, p.247-260, 2003.

GIBSON, R. A.; MAKRIDES, M. n-3 polyunsaturated fatty acid requirements of term infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, North Adelaide, v. 71, n. 1, p. 251-255, 2000.

GIROIL, **Loja online**. Disponível em: <http://loja.giroil.com.br>. Acesso em: 10/08/2014.

GÓMEZ, A. M.; OSSA, E. M. Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. **Chemical Engineering Journal**, v. 88, p. 103-109, 2002.

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

GOTO, M.; SATO, M.; HIROSE, T.; Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemical Engineering of Japan**. v. 26, p. 401-407, 1993.

GREENWALD, P. Clinical trials in cancer prevention: current results and perspectives for the future, *Journal of Nutrition*.,v.134, p. 3507S–3512S, 2004.

GUPTA, R. B.; SHIM, J. **Solubility in supercritical carbon dioxide**. Boca Raton: CRC Press, 2007. 909 p.

HARBORNE J. B. **Phytochemical methods**, London: Chapman and Hall, Ltd, 1973. p. 49-188.

HARPER, C. H., JACOBSON, T. The fats of life: the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. **Archives of Internal Medicine**, v.161, p. 2185–2192, 2001.

HERRERO, M. et al. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2495-2511, 2010.

HU, M.; SKIBSTED, L. H. Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*). **Food Chemistry**, v. 76, p. 327-333, 2002.

HUDSON, B. J. F.; LEWIS, J. I. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Structural criteria for activity. **Food Chemistry**. v. 10, p. 47-55, 1983.

HUANG, M. T.; FERRARO, T. Phenolic-compounds in food and cancer prevention, **ACS Symposium Series**, v.507, p.8-34, 1992.

HUXLEY, A. J. **The New RHS Dictionary of Gardening**. Macmillan Press: London, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

IXTAÍNA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of food composition analysis**, v.24, p.166-174, 2011a.

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

IXTAÍNA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 28, n. 3, p. 286-293, 2008.

IXTAÍNA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; GIMENO, M.; BÁRZANA, E.; TECANTE, A.; Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 192-199, 2010.

JEONG, S. K.; PARK, H. J.; PARK, B. D.; KIM, I. H. Effectiveness of topical chia seed oil on pruritus of end-stage renal disease (ESRD) patients and healthy volunteers, **Annals of Dermatology**, v. 22, n.2, p. 143-148, 2010.

JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA

in Postmenopausal Women. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 105–110, 2012.

KITZBERGER, C. S. G.; LOMONACO, R. H.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; CORREIA, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of shiitake oil: Curve modeling and extract composition. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 35-43, 2009.

KORHONEN, H. Technology options for new nutritional concepts. **International Journal of Dairy Technology** v.2, p.55, 2002.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LI, M.; BELLMER, D. D.; BRUSEWITZ, G. H. Pecan Kernel Breakage and Oil Extracted by Supercritical CO₂ as Affected by Moisture Content. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 6, p. 1084-1088, 1999.

LUDWIG, T.; WORSCH, S.; HEIKENWALDER, M.; DANIEL, H.; HAUNER, H.; BADER, B.L. Metabolic and immunomodulatory effects of n-3 fatty acids are different in mesenteric and epididymal adipose tissue of diet-induced obese mice. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 304, n. 11, p. E1140-E1156, 2013.

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

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Analytical applications of ultrasound. **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 413, 2007.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2383-2389, 2010.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F.; PERALBOMOLINA, A. The role of ultrasound in analytical derivatizations. **Journal of Chromatography B**, v. 879, p.1189–1195, 2011.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

MA, Y.; YE, X.; FANG, Z.; CHEN, J.; XU, G.; LIU, D. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Sastsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 5682-5690, 2008.

MAHESHWARI, P.; NIKOLOV, Z.L.; WHITE, T.M.; HARTEL, R. Solubility of Fatty Acids in Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of American oil Chemist's Society**, v. 69, n. 11, p. 1069-1076, 1992.

MARKOM, M.; HASAN, M.; DAUD, W.R.W.; SINGH, H.; JAHIM, J.M. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p.487-496, 2007.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Maringá, 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. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; SALGADO FALLER, C. M.; REVOL, J.; PENCI, M.C.; RIBOTTA, P.D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 78–82, 2012.

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 of Chemistry Research**, v. 42, p. 1057-63, 2003.

MARTÍNEZ, J.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of Clove and Vetiver Oils with Supercritical Carbon Dioxide: Modeling and Simulation. **The Open Chemical Engineering Journal**. v. 1, p. 1-7, 2007.

MASON, M. J.; SCAMMON, D. L.; FANG, X. The impact of warnings, disclaimers, and product experience on consumers' perceptions of dietary supplements, **Journal of Consumer Affairs**, v. 41, p. 74-99, 2007.

MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA JR, A., SMÂNIA, F.A., MARTÍNEZ, J., Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48-56, 2012.

MEIRELES, M. A. A. **Extracting Bioactive Compounds for Food Products**. Boca Raton: CRC Press, 2009. 464 p.

MEYER, F.; JAEGER, P.; EGGERS, R.; STAMENIC, M., MILOVANOVIC, S., ZIZOVIC, E. Effect of CO₂ pre-treatment on SC-CO₂ extraction of natural material. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 56, p. 37-45, 2012.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêsego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 10-16, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z. **Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenacea* D.C.) por diferentes técnicas: medida da atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases.** 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, p. 131–138, 2005.

MICHIELIN, E. M. Z.; SALVADOR, A. A.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA JR, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S., Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6615-6623, 2009.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.

MORA A.; PAYA M.; RIOS J. L.; ALCAZAR M. J. Structure-activity relationship of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxydation. **Biochemistry Pharmacology**, v.40, p.793-797, 1990.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Química Orgânica**. 7ed. Fundação Calouste Gulbenkian, 1981.

MUKHOPADHYAY, M. **Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide**. Boca Raton: CRC Press, 2000.

MURGA, R.; SANZ, M. T.; BELTRÁN, S.; CABEZAS, J. L. Solubility of three hydroxycinnamic acids in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical fluids**, v. 27, p. 239-245, 2003.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography A**, New York, n. 1/2, p. 95-111, 2004.

NAKAMURA, M.T.; NARA, T.Y. Structure, function and dietary regulation of delta-6, delta-5 and delta-9 desaturases. **Annual Review of Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 345-376, 2004.

NUTRIMA. **Loja online**. Disponível em: www.nutrима.com.br. Acesso em: 10/08/2014.

O' FALLON, J. V.; BUSBOOM, J. R.; NELSON, M. L.; GASKINS, C. T. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v. 6, p. 1511-1521, 2010.

ÖZCAN, A.; ÖZCAN, A. S. Comparison of supercritical fluid and Soxhlet extractions for the quantification of hydrocarbons from *Euphorbia macroclada*. **Talanta**. v. 64, p. 491-495, 2004.

PALMA, F.; DONDE, M.; LLOYD, W. R. Fixed oils of Mexico I - Oil of chia (*Salvia hispanica*). **Journal of the American Oils Chemist's Society**, v.24, p.27-28, 1947.

PALMA, M.; TAYLOR, L. T. Extraction of polyphenolic compounds from grape seeds with near critical carbon dioxide. **Journal of Chromatography**, v. 849, n.1, p.117-124, 1999.

PAULA, J. T.; PAVIANI, L. C.; FOGGIO, M. A.; SOUSA, I. M. O.; CABRAL, F. A. Extraction of antho-cyanins from *Arrabidaea chica* in fixed bed using CO₂ and CO₂/ethanol/watermixtures as solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v.81, p.33-41, 2013.

PAULA, J. T.; PAVIANI, L. C.; FOGGIO, M. A.; SOUSA, I. M. O.; DUARTE, G. H.; JORGE, M. P.; EBERLIN, M. N.; CABRAL, F. A. Extraction of anthocyanins and luteolin from *Arrabidaea chica* by sequential extraction in fixed bed using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents, **The Journal of Supercritical Fluids** v.86, p.100-107, 2014.

PEREDA, S.; BOTTINI, S. B.; BRIGNOLE, E. A. Fundamentals of Supercritical Fluids Technology. In: MARTÍNEZ, J. L. **Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 1-21.

PEREIRA, C.G. **Extração de alcalóides de *Tabernaemontana catharinensis* com dióxido de carbono supercrítico + etanol.** 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

PEREIRA, C.; MEIRELES, M. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 3, p. 340-372, 2010.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, p. 137-50, 2006.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4487-4490, 1998.

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

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

PRATT, D.E. In **Phenolic, Sulfur and Nitrogen Compounds in Food Flavor**, edited by G. Charalambous and I. Katz, ASC Symposium Series No. 26, 1976.

PRATT, D. E. In **Autoxidation in Food and Biological Systems** edited by M.G. Simic and M. Karel, Plenum Press, New York and London, 1980.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an

improved ABTS radical cation decolourization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

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

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. A., Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, p. 656-663, 2008.

RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, p.933–956, 1996.

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

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-58, 1965.

SALVADOR, A.A., **Atividade antioxidante e perfil de ácidos graxos de extratos da torta de noz pecã (*Carya illinoensis*) obtidos por extração supercrítica**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SANCHEZ-MORENO, C.; JIMENEZ-ESCRIG, A. SAURA-CALIXTO, F. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenol. **Nutrition Research**, v. 20, p. 941–953, 2000.

SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A.; Optimization of bioactive compounds extraction from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins assisted by high pressure CO₂. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.12, p.398–406, 2011.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, 2004.

SEABRA, I. J.; BRAGA, M. E. M.; BATISTA, M. T.; SOUSA, H. C.; Effect of solvent (CO₂/ethanol/H₂O) on the fractionated enhanced solvent extraction of antho-cyanins from elderberry pomace, **The Journal of Supercritical Fluids** v. 54, p. 145–152, 2010.

SANTERRE, C. R. **Pecan Technology**. New York: Chapman & Hall, p.161, 1994.

SERRADILLA, J. A. P; PRIEGO-CAPOTE, F. P.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Simultaneous ultrasound-assisted emulsification-extraction of polar and nonpolar compounds from solid plant samples. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 6767-6774, 2007.

SETIANTO, W.B., YOSHIKAWA, S., SMITH JR., R.L, INOMATA, H. FLORUSSED, L.J. PETERS, C.J. Pressure profile separation of phenolic liquid compounds from cashew (*Anacardium occidentale*) shell with supercritical carbon dioxide and aspects of its phase equilibria, **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48 p. 203–210, 2009.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations - A review of current status. **Chemical Engineering and Processing**, v. 53, p.10– 23, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª Ed. Porto Alegre, Florianópolis; Editora UFRGS, Editora UFSC, 2010.

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

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n.6, p. 495–505, 2002.

SMÂNIA JR, A.; DELLE MONACHE, F.; SMÂNIA E. F. A.; GIL, M. L.; BENCHETRIT, L. C.; CRUZ, F. S. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) **Murr. Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, n. 3, p. 177-181, 1995.

SMITH JR, R. L.; MALALUAN, R. M.; SETIANTO, W. B.; INOMATA, H.; ARAI, K. Separation of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid with supercritical carbon dioxide, **Bioresource Technology** v.88, p. 1–7, 2003.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L., Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p.118-122, 1998.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, p. 323-331, 2010.

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. 409-14, 1994.

SOVOVÁ, H.; KUCERA, J.; JEZ, J. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂: II. Extraction of grape oil. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p.415-20, 1994.

TAGA, M. S.; MILLER, E. E.; PRATT, D. E.; Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 61, p.928–931, 1984.

TALANSIER, E. et al. Supercritical fluid extraction of vetiver roots: A study of SFE kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 2, p. 200-208, 2008.

TUBEROSO, C., KOWALCZYK, A., SARRITZU, E., CABRAS, P., Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1494–1501, 2007.

TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B., SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, Synthesis and Design of Chemical Processes**. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall, 2009.

VALGAS, C.; SOUZA, S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JR, A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 370-380, 2007.

VEILLET, S.; TOMAO, V.; CHEMAT, F. Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatization of olive oil with basil. **Food Chemistry**, v. 123, p. 905–911, 2010.

VIEIRA, G. R. T. **Otimização das condições de cultivo de *Polyporus tricholoma* Mont. visando à produção de substâncias antibacterianas**. 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1241-1249, 2007.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p. 303-13, 2001.

VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. **Ácidos Graxos em óleos e gorduras: Identificação e Quantificação**. São Paulo: Livraria Varela, 2006, 120 p.

WANG, Y. S.; HE, H. P.; YANG, J. H.; DI, Y. T.; HAO, X. J. New Monoterpenoid Coumarins from *Clausena anisum-olens*. **Molecules**, v. 13, p. 931–937, 2008.

YAO, W.; LI, J.; WANG, J. J.; ZHOU, W. WANG, Q.; ZHU, R.; WANG, F.; THACKER, P.; Effects of dietary ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids on immunoglobulins, cytokines, fatty acid composition, and performance of lactating sows and suckling piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 43, 2012.

ZHENG, C.J., YOO, J.S., LEE, T.G., CHO, H.Y., KIM, Y.H., KIM, W.G., Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. **FEBS Letters** v. 579 p. 5157–5162, 2005.

ZIBETTI, A.W.; AYDI, A.; LIVIA, M. A.; BOLZAN, A.; BARTH, D. Solvent extraction and purification of rosmarinic acid from supercritical fluid extraction fractionation waste: Economic evaluation and scale-up. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 83, p. 133–145, 2013.

APÊNDICE A - DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO

Tabela 22: Dados experimentais das curvas cinéticas de ESC

Tempo (min)	Massa acumulada (g)	
	150 bar 40°C	200 bar 50°C
5	0,0017	0,0023
10	0,0025	0,0156
15	0,0035	0,0891
20	0,005	0,1707
25	0,0069	0,2141
30	0,0119	0,2848
40	0,0504	0,4165
50	0,1223	0,5452
60	0,3042	0,6817
70	0,4362	0,814
80	0,5546	0,9553
90	0,6941	1,0226
105	0,8861	1,1162
120	1,0289	1,2251
150	1,132	1,2516
180	1,1592	1,2635
210	1,1869	1,2648
240	1,2212	
270	1,2253	
300	1,2484	
330	1,255	

Tabela 23: Dados experimentais da curva cinética de ESC-S

Massa acumulada (g)	
Tempo (min)	ESC-S
5	0,0036
10	0,0059
15	0,011
20	0,0138
25	0,0191
30	0,0251
40	0,0722
50	0,1858
60	0,2681
75	0,4857
90	0,6237
105	0,8315
107	1,2982
110	1,3027
115	1,3092
120	1,3117
125	1,3176
130	1,3237
140	1,3284
150	1,3321
160	1,3357
170	1,3392
180	1,3448
200	1,3516

ANEXO A - MODELOS MATEMÁTICOS

A1. 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 a temperatura e a pressão são mantidas constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são considerados homogêneos e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Como resultado da moagem, as células localizadas na superfície das partículas são rompidas, tornando parte do soluto exposto ao solvente (MEZZOMO, 2008).

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 fluida 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. Neste modelo, o perfil de concentração do soluto na fase fluida 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;

b) na segunda etapa o soluto de fácil acesso se esgota ao longo do leito, e inicia-se a extração do soluto de difícil acesso, chamada de etapa FER, na qual t_{FER} é o final da etapa de taxa de extração decrescente;

c) nesta etapa são retirados os solutos de difícil acesso (X_k) presentes no interior das partículas sólidas – denominada etapa difusional – sendo controlada pela resistência interna à transferência de massa.

A curva de extração obtida pelo modelo de Sovová (1994) é representada pelas Equações A1, A2 e A3, com a massa total de extrato obtida na saída do extrator, em função do tempo:

para $t \leq t_{CER}$:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-Z)] t \quad (A1)$$

para $t_{CER} < t \leq t_{FER}$:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{CER} \exp(Z_w(t) - Z)] \quad (A2)$$

para $t > t_{FER}$:

$$m(h = H, t) = M_{SI} \left[X_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left\{ 1 + \left[\exp \left(\frac{W X_0}{Y^*} \right) - 1 \right] \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{M_{SI}} (t_{CER} - t) \right] \right\} \left(\frac{X_k}{X_0} \right) \right] \quad (A3)$$

Onde:

$$Z_w = \frac{Z Y^*}{W X_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{M_{SI}} (t - t_{CER}) \right] - X_k}{X_0 - X_k} \right\} \quad (A4)$$

$$Z = \frac{M_{SI} k_{ya} \rho}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad (A5)$$

$$W = \frac{M_{SI} k_{xa}}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon)} \quad (A6)$$

$$t_{CER} = \frac{M_{SI} X_p}{Q_{CO_2} Z Y^*} \quad (A7)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{M_{SI}}{Q_{CO_2} W} \ln \frac{X_k + X_p \exp\left(\frac{W X_0}{Y^*}\right)}{X_0} \quad (A8)$$

h = coordenada axial (m);

H = comprimento total do leito (m);

t = tempo (s);

M_{SI} = massa de sólido inerte (kg);

x_0 = razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg);

X_k = razão mássica de soluto de difícil acesso (kg/kg);

X_p = razão mássica de soluto de fácil acesso (kg/kg);

Y^* = solubilidade do soluto no solvente (kg/kg);

Q_{CO_2} = vazão de solvente (CO_2) (kg/h).

ρ = massa específica do solvente (kg/m^3).

ρ_s = massa específica da partícula sólida (kg/m^3).

Nas equações do modelo de Sovová (1994) pode-se dizer que a quantidade Z, apresentada na Equação A5, é um parâmetro para a etapa CER porque essa quantidade (Z) é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa na fase fluida (k_{ya}) e este coeficiente controla a taxa de extração no período CER.

Para a resolução do modelo de Sovová (1994), é necessário conhecer alguns parâmetros: M_{CER} , taxa de extração na etapa CER (kg/min); Y_{CER} , razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER ($kg_{extrato}/kg_{CO_2}$); t_{CER} , duração da etapa CER (min) (CAMPOS, 2005). O parâmetro M_{CER} é o valor da tangente ao período CER e, a partir dele, obtêm-se o valor de Y_{CER} através da Equação A9.

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}} \quad (A9)$$

Os parâmetros k_{xa} e k_{ya} são, respectivamente, os coeficientes de transferência de massa na fase sólida e na fase fluida (min^{-1}), e são definidos pelas Equações A10 a A14:

$$k_y a = \frac{M_{CER}}{\rho_{CO_2} SH \Delta Y} \quad (A10)$$

$$k_x a = \frac{k_y a \rho_{CO_2} \overline{\Delta Y}}{\rho_s \Delta X} \quad (A11)$$

$$\Delta X = \frac{x_p + x_k}{2} \quad (A12)$$

$$x_p = x_0 + x_k \quad (A13)$$

$$\overline{\Delta Y} = \frac{Y_{CER}}{\ln\left(\frac{Y^*}{Y^* - Y_{CER}}\right)} \quad (A14)$$

Onde:

ΔY : média logarítmica para a razão mássica de soluto na fase fluida (kg/kg);

ΔX : média aritmética para a razão mássica de soluto na fase sólida (kg/kg).

A2. MODELO DE MARTÍNEZ et al. (2003)

O modelo de Martínez et al. (2003) é uma proposta 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 de convecção.

Para um único grupo de componentes, a curva de extração obtida pelo modelo de Martínez et al. (2003) pode ser representada pela Equação A15.

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} \right\} \quad (A15)$$

Onde:

h = coordenada axial (m);

H = comprimento total do leito (m);

t = tempo (s);
 m_{ext} = massa de extrato (kg);
 m_0 = massa de soluto inicial (kg);
 b_i e t_{mi} são parâmetros ajustáveis do modelo (min^{-1} e min , respectivamente).

A3. MODELO DE ESQUÍVEL, BERNARDO-GIL E KING (1999)

Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) avaliaram três modelos matemáticos para a simulação das curvas de extração de casca de azeitonas, dois deles baseados no balanço diferencial de massa um baseado na cinética do crescimento de microrganismos de monod a equação empírica que representa a curva de extração aplicada para ajustar o óleo de casca de azeitona está apresentada na Equação A16.

$$m_{ext}(t) = x_0 m \left(\frac{t}{b+t} \right) \quad (A16)$$

onde $m_{ext}(t)$, é a massa de extrato em função do tempo (kg); t , é o tempo de extração (min); m , massa de matéria-prima (kg); x_0 razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg) e b , um parâmetro ajustável (min) (MEZZOMO, 2008).

A4. MODELO DE PLACA (SSP) PROPOSTO POR GASPAR et al. (2003)

O modelo de placa, proposto por Gaspar et al. (2003), considera a transferência de massa na partícula sólida, assim como o modelo proposto por Crank (1975). A diferença entre estes dois modelos está na geometria considerada em cada modelo, ou seja, no modelo SSP as partículas sólidas são consideradas como placas, enquanto que no modelo de difusão as partículas são consideradas esféricas (MEZZOMO, 2008).

O modelo SSP ainda assume que a concentração de soluto na fase fluida é desprezível quando comparada à concentração na fase sólida; a resistência à transferência de massa na fase fluida é desprezada e o balanço de massa na fase fluida é negligenciado (BISCAIA, 2007).

Aplicando a segunda Lei de Fick para a difusão e resolvendo analiticamente o balanço de massa na parte interna da partícula, a massa de extrato obtida com o tempo é representada pela Equação A17,

proposta por Gaspar et al. (2003), com modificação apresentada por Campos et al. (2005) (MEZZOMO, 2008).

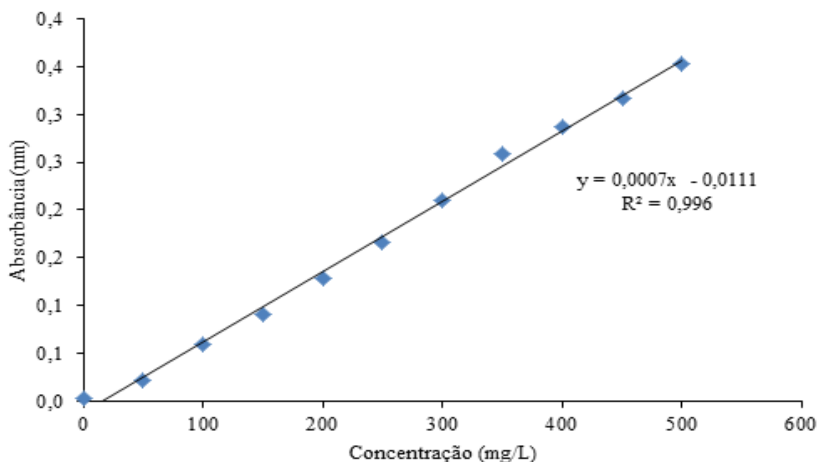
$$m_{ext} = m_0 \left[1 - \sum_0^{\infty} \frac{0.8}{(2n + 1)^2} \exp\left(\frac{-D_m (2n + 1)^2 \pi^2 t}{\delta^2}\right) \right] \quad (A17)$$

onde m_{ext} é a massa de extrato (kg); m_0 , é a massa inicial de soluto (kg); D_m , é a difusividade na matriz sólida (m^2/min); t , é o tempo (min); δ , é a meia espessura das partículas (placas) (m) e n é um número inteiro (MEZZOMO, 2008).

ANEXO B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO

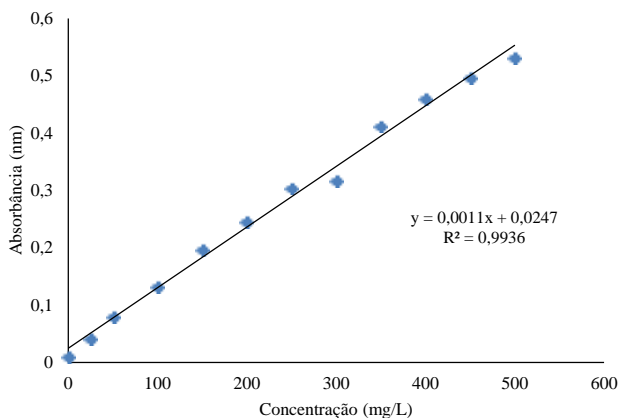
B1. CURVA PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (ANDRADE, 2011)

Figura 27: Curva padrão do ácido clorogênico, utilizada na análise de TFT



B2. CURVA PADRÃO DO ÁCIDO GÁLICO (SALVADOR, 2014)

Figura 28: Curva padrão do ácido gálico, utilizada na análise de TFT



B3. CURVA PADRÃO DE TROLOX (ANDRADE, 2011)

Figura 29: Curva de calibração de Trolox, utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS

