



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

DANIELE PENTEADO ROSA

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE LARANJA POR
MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS - ESTUDO
COMPARATIVO DA EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM E COM
FLUIDO SUPERCRÍTICO**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2017

DANIELE PENTEADO ROSA

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE LARANJA POR
MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS - ESTUDO COMPARATIVO
DA EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM E COM FLUIDO
SUPERCRÍTICO**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Processo
2013/18947-4

Orientador: Prof. Dr. Javier Telis Romero
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Lopes
de Oliveira

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2017

Rosa, Daniele Penteado .

Extração de óleo de sementes de laranja por métodos não convencionais - Estudo comparativo da extração por Ultrassom e com Fluido Supercrítico / Daniele Penteado Rosa. -- São José do Rio Preto, 2017

87 f. : il., tabs.

Orientador: Javier Telis Romero

Coorientador: Alessandra Lopes de Oliveira

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Óleos e gorduras. 3. Óleos vegetais. 4. Extração com fluido supercrítico. 5. Laranja. 6. Semente. 7. Antioxidantes. 8. Ultrassom. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 664.3

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Campus de São José do Rio Preto

DANIELE PENTEADO ROSA

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES DE LARANJA POR
MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS - ESTUDO COMPARATIVO
DA EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM E COM FLUIDO
SUPERCRÍTICO**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Processo 2013/18947-4

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Javier Telis Romero
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Corrêa Basso
UNIFAL – Poços de Caldas - MG

Prof^a. Dr^a. Patricia de Carvalho Damy Benedetti
Unilago – São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Marília Gonçalves Cattelan
UNESP – São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Marques Pedro
Unilago – São José do Rio Preto

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
18 de agosto de 2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me concedido a vida, e por me dar força nos momentos de angústia.

Ao meu filho Arthur, que é o motivo do meu esforço e desejo de ser cada dia melhor.

Aos meus pais Osmar e Solange, pelo esforço, pelos sacrifícios e pelo amor que me foi dedicado; por ser meu porto seguro, mesmo estando longe, e também por aguentarem a saudade para que eu pudesse concluir mais um sonho.

Agradeço também a minha irmã Tatiane, que sempre me ajudou e me orientou em minhas decisões, contribuindo para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu esposo Leandro pelo amor, compreensão, incentivo e ajuda sempre, e por ter paciência e me suportar nos momentos de estresse. Te amo, obrigada pela nossa família.

Ao meu orientador Prof. Dr. Javier Telis Romero por todos os ensinamentos, conselhos, sugestões durante o projeto e amizade! Por me proporcionar enriquecimento pessoal e profissional.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira pela disponibilidade em me co-orientar, pelos ensinamentos e atenção. E principalmente pelo carinho em que me acolheu em sua casa durante a realização das análises... Um abraço com muito carinho para a Lea também.

Aos membros da banca de Doutorado: Prof. Dr. Javier Telis Romero, Prof. Dr. Rodrigo Corrêa Basso, Profa. Dra. Patricia de Carvalho Damy

Benedetti, Profa. Dra. Marília Gonçalves Cattelan e Prof. Dra. Maria Angélica Marques Pedro, pelos valiosos conselhos para aperfeiçoamento da tese.

Aos membros da banca de qualificação Profa. Dra. Keila de Souza Silva e Prof. Dr. Elias de Souza Monteiro Filho pelas preciosas sugestões para o projeto.

Aos meus queridos amigos e amigas de laboratório e pós-graduação, em especial ao grande amigo Harvey Alexander Villa Vélez, pela disponibilidade de transmitir seus conhecimentos, e por estar sempre disposto a ajudar a todos! E à Diana e Gustavo pela amizade construída. Muito obrigada!

Aos alunos e técnico do Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais (LTAPPN) – FZEA, em especial à Naila, Débora e Nilson que me auxiliaram nas análises e interpretação dos resultados.

À querida amiga Flavia Villas Boas pelo apoio e incentivo durante a pós-graduação, pelos momentos de descontração, e principalmente pela eterna amizade! Sem sua ajuda ficaria muito mais difícil chegar ao final dessa caminhada.

À amiga-irmã que a graduação me proporcionou, Michele Marcon, que me acolheu sempre que precisei, sempre disposta a ajudar... Sem seu o apoio juntamente com o Beto, não teria conseguido chegar até o final. Minha eterna gratidão...

Às amigas engenheiras Priscila Palhares e Marielle Catanho que mesmo de longe, sempre estiveram presentes durante estes anos.

Aos amigos e familiares que muitas vezes mesmo sem entender o motivo de tanto estudo, sempre me apoiaram, incentivaram e torceram. Em especial à minha prima Deila que me apoiou e incentivou a continuar.

À UNESP, ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, aos professores do DETA, pelas contribuições durante as disciplinas de estudos.

À Empresa Mira Citrus - Suco de Laranja Integral e ao Engenheiro de Alimentos Jeferson Secches da Conceição, pelo fornecimento do material para realização deste projeto, e pela amizade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de Doutorado, através do processo 2013/18947-4.

“O sucesso é uma consequência e não um objetivo.”

(Gustave Flaubert)

RESUMO

Extração de óleo de sementes de laranja é uma alternativa ao descarte dos resíduos da indústria de processamento de suco, e métodos não convencionais são estudados para otimizar o processo em relação ao rendimento e minimizar os danos causados ao óleo em relação à temperatura e solventes utilizados. Devido aos diferentes mecanismos de extração do óleo, esse projeto propôs estudar o efeito do ultrassom de potência e a aplicação de fluido supercrítico na extração de óleos de sementes de laranja, determinando qual método apresentava melhor rendimento e melhor manutenção das características de bioatividade do extrato obtido. Na extração por ultrassom de potência (UP) foram avaliados os parâmetros tempo, potência e efeito do solvente e comparados com o rendimento obtido pela extração com fluido supercrítico (EFS). A caracterização das sementes de laranja apresentou valores dentro do esperado e próximo aos encontrados na literatura. Umidade da semente seca e tamanho de partícula encontraram-se dentro dos limites indicados para extração de óleos vegetais. Os maiores rendimentos para a extração com ultrassom foram encontrados para o hexano, em tempo de 120 minutos e potência de 900 W, apresentando 36,74% de óleo e um rendimento de 0,96. Nos procedimentos de EFS verificou-se que o rendimento da extração aumentou com o aumento da pressão à temperatura constante, onde observou-se um comportamento típico para a EFS, em que o maior rendimento de extração se dá na etapa de taxa constante, apresentando 34,98% de óleo com um rendimento de 0,92, para extração à 70°C e 300 bar. A análise de bioatividade evidencia que o óleo de semente de laranja apresentou atividade antioxidante e permite determinar que o Álcool Isopropílico foi o melhor tipo de solvente para a extração de carotenoides com valor de 22,76 µg β-caroteno/g de amostra, e o que melhor preservou as propriedades antioxidante através do método de DPPH com valor de 133,75 µM TE/g de amostra.

Palavras-chave: Extração. Semente de laranja. Ultrassom de Potência. Fluido Supercrítico. Antioxidantes.

ABSTRACT

Orange seed oil extraction is an alternative to waste disposal from the materials juice processing industry, and unconventional methods are studied to optimize the process in relation to yield and minimize the damage caused in relation to the temperature and the solvents used. Due to the different mechanisms of oil extraction, this project proposes to study the effect of ultrasound power and a supercritical fluid application in the extraction of orange seeds oils, determining which method presents better yield and better retains as bioactivity characteristics of the extract obtained. The ultrasound power extraction (UP) evaluated the time, power and effect of the solvent and compared with the yield obtained by supercritical fluid extraction (EFS). The characterization presented values within expected and close to those found in the literature. Dry seed moisture and available particle size within the limits indicated for extraction of vegetable oils. Greater yields for the extraction with ultrasound were found for the hexane, in time of 120 minutes and power of 900 W, yielding 36.74% of oil and a yield of 0.96. In the procedures of EFS it verifies As the extraction efficiency increases with increasing constant temperature pressure and the analysis of the behavior of the solute extraction curve over time, a typical behavior for EFS is observed as a function of the process variables, in which the higher yield is obtained in the constant rate step, yielding 34.98% oil in a yield of 0.92, for extraction at 70 ° C and 300 bar. A bioactivity analysis indicates that the orange seed oil presents the antioxidant activity and allows to determine the Isopropyl Alcohol is the best type of solvent for extraction of carotenoids with a value of 22.76 µg β-carotene/g sample, and what best preserves as antioxidant characteristics through the DPPH method with a value of 133.75 µM TE/g of sample.

Keywords: Extraction. Orange seed. Power Ultrasound. Supercritical Fluid. Antioxidants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema ultrassônico tipo sonda.....	23
Figura 2 - Sistema ultrassônico tipo banho.....	24
Figura 3 - Representação esquemática do comportamento do CO ₂ em um diagrama de fase P-T.	25
Figura 4 - Comportamento típico de processo de extração com fluido supercrítico.....	29
Figura 5 - Equipamento ultrassônico VCX 1500 HV	34
Figura 6 - Aparato para extração assistida por ultrassom	35
Figura 7 - Sistema de filtração à vácuo	36
Figura 8 - Evaporador rotativo com banho termostático e sistema de vácuo ..	37
Figura 9 - Sistema de extração supercrítica	38
Figura 10 - Extrator de leito fixo - Sistema TharSCF.....	39
Figura 11 - Porcentagem de óleo em relação ao tempo para potências de 300, 900 e 1500 W e solventes (a) Hexano, (b) Álcool Isopropílico e (c) Mistura (1:1 de Hexano e Álcool Isopropílico ítico	52
Figura 12 - Porcentagem de óleo em relação ao tempo para os solventes Hexano, Álcool Isopropílico e Mistura (1:1 de Hexano e Álcool Isopropílico) nas potências (a) 300W, (b) 900W e (c) 1500W.....	54
Figura 13 - Porcentagem de óleo em relação à potência para os solventes Hexano, Álcool Isopropílico e Mistura (1:1 de Hexano e Álcool Isopropílico) nos	

tempos (a) 30 minutos, (b) 60 minutos, (c) 90 minutos, (d) 120 minutos e (e) 150 minuto 55

Figura 14 - Rendimento das extrações de óleo de semente de laranja em função da densidade do CO₂ supercrítico 58

Figura 15 - Diagrama de Pareto das variáveis (P e T) estudadas no rendimento do óleo de semente de laranja 59

Figura 16 - Superfície de resposta gerada pelo modelo quadrático onde mostra os efeitos das variáveis independentes no rendimento da extração 61

Figura 17 - Curva de extração com fluido supercrítico de semente de laranja a 250 bar, 60 °C e 8g/min de CO₂..... 63

Figura 18 - Dados experimentais (○) e calculados (□) do calor específico da mistura hexano-torta empregando o modelo exponencial. Linhas verticais indicam o desvio padrão da triplicata 66

Figura 19 - Dados experimentais (○) e calculados (□) do calor específico da mistura álcool isopropílico-torta empregando o modelo exponencial. Linhas verticais indicam o desvio padrão da triplicata 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades críticas de solventes que podem ser usados na extração supercrítica	27
Tabela 2 - Métodos de análise para determinação da composição química dos resíduos.....	32
Tabela 3 - Abertura das peneira	33
Tabela 4 - Planejamento experimental da extração assistida por ultrassom	36
Tabela 5 - Níveis dos dois fatores, Pressão e Temperatura, no DCCR.....	40
Tabela 6 - Matriz do DCCR 2 ² com 3 pontos centrais e 4 axiais para o estudo do efeito da Pressão e Temperatura	40
Tabela 7 - Análises físico-químicas da semente de laranja	47
Tabela 8 - Umidade das sementes de laranja secas e trituradas	48
Tabela 9 - Massa de sementes de laranja secas e trituradas reitdas nas peneiras.....	49
Tabela 10 - Densidade aparente das sementes de laranja secas e trituradas	49
Tabela 11 - Rendimento da extração assistida por ultrassom	50
Tabela 12 - Matriz do DCCR 2 ² no estudo do efeito da T e P no rendimento do óleo de semente de laranja obtido por SFE	56
Tabela 13 - Análise de variância (ANOVA) do modelo de primeira ordem para o rendimento global de óleo de sementes de laranja	59

Tabela 14 - Análise de variância (ANOVA) do modelo quadrático para o rendimento global de óleo de sementes de laranja	60
Tabela 15 - Resultados da modelagem de cp da mistura hexano-torta	64
Tabela 16 - Resultados da modelagem de cp da mistura álcool isopropílico-torta	65
Tabela 17 - Carotenoides totais dos óleos de sementes de laranja.....	67
Tabela 18 - Capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) de óleo de semente de laranja.....	68
Tabela 19 - Rendimento de extração para os diferentes métodos e solventes utilizados	70

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1.Resíduos da indústria de suco de laranja.....	15
2.1.1.Principais compostos presentes no resíduo de laranja	17
2.1.2.Antioxidantes	18
2.2.Métodos de extração	21
2.2.1.Ultrassom de potência (UP) – Extração com solventes.....	22
2.2.2.Fluido Supercrítico	24
2.2.3. Extração por Fluido Supercrítico (EFS)	26
2.2.4. Cinética de extração	29
3. MATERIAIS MÉTODOS.....	31
3.1.Preparo das amostras	31
3.1.1.Determinação da umidade das sementes secas	32
3.1.2.Determinação do tamanho de partícula (D_m).....	32
3.1.3.Determinação da Densidade aparente (pap).....	33
3.2.Extração por Ultrassom de Potência (UP).....	34
3.2.1.Rendimento de extração	37
3.3.Extração com fluido supercrítico (EFS)	38
3.3.1.Planejamento Experimental	40
3.3.2.Cinética e curvas de extração	41
3.4.Determinação do calor específico	42
3.4.1.Modelagem matemática e validação estatística do calor específico	43
3.5.Caracterização dos óleos extraídos	44
3.5.1.Identificação de Carotenoides totais.....	44
3.5.2. Capacidade antioxidante	45
3.5.2.1. Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido	
sulfônico).....	45
3.5.2.2. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).....	46
4.RESULTADOS.....	47

4.1. Análises físico-químicas	47
4.2.Extração por Ultrassom de Potência	50
4.3.Extração com fluido supercrítico (EFS)	56
4.3.1.Cinética de extração	62
4.4.Determinação do calor específico	63
4.5.Carotenoides totais.....	67
4.6.Capacidade antioxidante	68
5. ESTUDOS COMPARATIVOS DOS PROCESSOS DE DE EXTRAÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO.....	69
6. CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS.....	73
APÊNDICE	87

1. INTRODUÇÃO

A extração é uma operação unitária que tem por objetivo a separação de determinadas substâncias a partir de diversas matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos químicos, físicos ou mecânicos (BENELLI, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pelo Decreto nº 3.029, Consulta Pública nº 85, define óleos vegetais como produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécies vegetais, que podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura (BRASIL, 2004).

Os óleos e gorduras vegetais podem ser obtidos de diversas partes da planta, de modo especial das sementes, onde se acumulam em maior quantidade. A extração de óleos fixos das oleaginosas vegetais pode ocorrer por prensagem ou pelo esgotamento por solventes voláteis (PEREIRA, 2009). O extrato bruto obtido de plantas frescas ou secas, ou partes de plantas por diferentes processos de extração é ponto de partida para a descoberta e o isolamento de substâncias bioativas (BARBOSA, 2008; SILVA, 2009).

Diferentes técnicas de extração estão sendo estudadas para otimizar o processo em relação ao rendimento e minimizar os danos causados ao óleo devido à temperatura e solventes utilizados. A extração por ultrassom de potência (UP) é uma tecnologia em potencial desenvolvimento devido à simplicidade da técnica e baixa necessidade instrumental. A técnica de ultrassom apresenta tempo reduzido, baixa temperatura (quando controlada externamente) e aumento nos rendimentos das extrações. O mecanismo para melhor extração por UP é atribuído ao comportamento das bolhas formadas pela cavitação na propagação das ondas

acústicas. O colapso das bolhas pode produzir efeitos físicos, químicos e mecânicos, os quais resultam na ruptura da parede celular, facilitando a liberação de compostos e aumentando a transferência de massa do solvente da fase contínua dentro da célula vegetal (MA et al., 2008).

Outra técnica que está sendo difundida para extração de óleos vegetais utiliza fluidos supercríticos e tem se destacado nos últimos anos, principalmente quando a aplicação do extrato é direcionada às indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. Esta metodologia apresenta-se como uma alternativa aos processos convencionais de extração visando à obtenção de compostos de alto valor agregado e com elevado grau de pureza (POURMORTAZAVI, HAJIMIRSADEGUI, 2007; RIZVI et al., 1986). O dióxido de carbono (CO_2) é o fluido supercrítico mais comumente utilizado por apresentar características como inflamabilidade, atoxicidade, facilidade de remoção do extrato na despressurização, custo-benefício vantajoso, além de reduzir a decomposição térmica da amostra, devido a sua baixa temperatura crítica (SCALIA et al., 1999).

As propriedades dos fluidos supercríticos aumentam as taxas de extração e os rendimentos, sendo que o poder de solvatação é aumentado pelas altas massas específicas dos fluidos em condições supercríticas, já as baixas viscosidades juntamente com valores de difusividade fornecem alto poder de penetração na matriz sólida (AGHEL et al., 2004; TSAO, DENG, 2004).

Dessa forma o projeto objetiva estudar o efeito do ultrassom de potência e a aplicação de fluido supercrítico na extração de óleos de sementes de laranja utilizando solventes para a aplicação de ultrassom e CO_2 como fluido supercrítico, e caracterizar o extrato quanto a sua bioatividade. Para cumprir com esse objetivo geral serão realizados os objetivos específicos descritos a seguir:

- Determinar o efeito das potências de ultrassom de 300, 900 e 1500 W na extração do óleo de sementes de laranja.
- Determinar a influência dos tempos de ultrassom de 30, 60, 90, 120 e 150 minutos, na extração de óleo de sementes de laranja.
- Avaliar a eficiência do UP no processo de extração, usando como solventes hexano, álcool isopropílico e a mistura 1:1 (Hexano:Álcool Isopropílico).
- Avaliar a eficiência da extração de óleo de semente de laranja através da EFS por um planejamento experimental.
- Determinar a cinética de extração por EFS;
- Realizar estudos comparativos entre os métodos de extração por UP e EFS.
- Determinar a atividade antioxidante através da determinação de carotenoides e pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfonico)).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As tecnologias clássicas de extração são baseadas no uso de um solvente apropriado para remover compostos lipofílicos do interior do tecido celular. Os métodos de extração de óleos variam conforme sua localização na planta e com a proposta de utilização do mesmo. Na literatura são encontrados alguns tipos de extratores de óleos nos quais as formas mais comuns de extração destes compostos podem ser realizadas através de técnicas convencionais como a prensagem a frio, extração por Soxhlet, destilação por arraste a vapor de água, entre outras. Técnicas

convencionais de extração fundamentam-se na escolha correta do solvente extrator, na agitação, no uso de calor, aumentando assim, a solubilidade dos componentes e a taxa de transferência de massa (BARBOSA, 2008; BENELLI, 2010; TAVARES, 2007). Os processos citados podem produzir extratos de qualidade, entretanto, a temperatura elevada e o uso de solventes orgânicos podem fazê-los divergir da qualidade original, por causar danos aos componentes altamente sensíveis e a perda de componentes voláteis. Visando minimizar os efeitos negativos que a extração convencional causa no óleo final, técnicas menos agressivas estão sendo estudadas e apresentam vantagens sobre as convencionais, dentre estas técnicas destacam-se a extração por ultrassom de potência (UP) e a extração por fluido supercrítico (EFS).

O ultrassom é utilizado na extração de matrizes vegetais por aumentar o estresse mecânico das células, aumentar a permeabilidade das paredes celulares, o que facilita a dilatação e hidratação do material através do aumento do tamanho dos poros da membrana celular, melhorando o processo de transferência de massa. O aumento no tecido celular devido a hidratação pode, em alguns casos, quebrar a parede celular, causando a saída dos compostos da célula, além de aumentar a eficiência da extração e/ou redução do tempo de extração, e aumentar a área de contato entre o sólido e a fase líquida. Contudo, o efeito do ultrassom no processo de extração depende da frequência e da potência do aparelho (BARBOSA, 2008).

Já a extração com fluido supercrítico (EFS) tem sido reconhecida como um processo promissor para alimentos, pois proporciona maior seletividade, menor tempo de extração e uso de solventes orgânicos não tóxicos. EFS é um processo alternativo e tecnologia inovadora, que aumenta continuamente os seus campos de aplicação. O processo baseia-se no contato entre uma matéria-prima sólida e um

solvente sob pressão, o qual remove os compostos de interesse da fase sólida (MEZZOMO et al., 2010; SERRA et al., 2010). Devido à complexidade e variabilidade estrutural dos materiais a ser tratados e a grande variedade de compostos que podem ser extraídos (diferente peso molecular, polaridade, a ligação com a estrutura) estes processos apresentam grande potencial de estudo. Além de um interesse cada vez maior em se obter substâncias de alto valor agregado, tais como antioxidantes, produtos farmacêuticos e corantes (REVERCHON, DE MARCO, 2006).

O uso de sementes de laranja para obtenção de óleo é viável devido à utilização de resíduos agroindustriais na elaboração de novos ingredientes, trazendo consigo, uma alternativa econômica para as agroindústrias, ao mesmo tempo gerando sustentabilidade para o meio ambiente. Dessa forma, subprodutos como cascas, sementes e bagaços podem ser transformados em ingredientes alimentícios (RODRIGUES, 2010). O óleo produzido a partir dos frutos, cascas, flores e sementes de várias espécies de citros, são usados em produtos de confeitaria, e indústria de perfumaria, além de apresentarem atividades antioxidantes. Devido à grande utilização de óleos de sementes de citros para uso comercial, estão sendo realizadas pesquisas sobre a sua composição química, e a utilização de técnicas alternativas para a extração de óleos auxilia na manutenção da qualidade dos compostos de interesse, além de agregar valor aos subprodutos da industrialização de suco de laranja.

2.1. Resíduos da indústria de suco de laranja

O Brasil é o maior produtor e exportador de suco de laranja e detém 50 % da produção mundial de suco de laranja, sendo que exporta 98 % do que produz.

Segundo o IBGE (2017), em seu relatório divulgado no mês março de 2017, a safra de laranja in natura/2017 teve uma produção de 14.653.571 toneladas, sendo que a produção de suco de laranja foi de 1,2 milhão de toneladas (congelado e concentrado) (CONAB, 2017; EXAME, 2017).

Apesar de o suco ser o principal produto da laranja, vários subprodutos com valor comercial são obtidos durante o processo de fabricação. Entre esses estão os óleos essenciais (óleos voláteis que são retirados da casca da laranja), limoneno (fração oleosa obtida da destilação dos resíduos úmidos da laranja) e o farelo de polpa cítrica. A polpa cítrica é um subproduto da indústria de sucos obtido por meio do tratamento de resíduos sólidos e líquidos remanescentes da extração do suco de laranja. Esses resíduos equivalem a 50% do peso de cada fruta, destacando as cascas, sementes e polpas de laranjas (ROSA, 2013).

Atualmente, as sementes e as cascas de citros são misturadas com bagaço e são empregados como complemento para alimentação animal ou na forma de fertilizantes, devido a que este material é geralmente propenso a degradação microbiológica, sua utilização sem nenhum tratamento é limitada, porém, o custo da secagem, armazenagem e transporte de subprodutos tornam o processo economicamente inviável. Os benefícios da utilização destes resíduos de maneira eficiente, econômica e segura tornam-se relevantes, devido à rentabilidade e aos possíveis empregos.

Com o estudo dos componentes das sementes, pode-se obter constituintes puros ou frações que tenham alto valor agregado e a recuperação de óleos de sementes é uma opção promissora à utilização de subprodutos originários do processamento de frutos. Em estudos realizados com essas sementes, observou-se que o óleo apresenta alta quantidade de ácidos graxos insaturados e que quando

refinado poderia ser utilizado na formulação de óleos comestíveis (KOBORI, JORGE, 2005).

2.1.1. Principais compostos presentes no resíduo de laranja.

A polpa cítrica, composta basicamente pela casca, polpa e sementes, é hoje o principal subproduto da indústria de suco de laranja, caracterizada pelo seu alto valor energético, sendo rica em açúcares e muito utilizada na alimentação de ruminantes, porém, o seu uso não se limita à fabricação de ração. Esta polpa cítrica é obtida por meio do tratamento de resíduos sólidos e líquidos remanescentes da extração do suco de laranja, e equivalem a 50% do peso de cada fruta (CAMARGO et al., 2005; RODRIGUES, 2006). O estudo com sementes de laranja é uma forma de agregar valor aos resíduos sólidos do processamento da fruta, visto que os compostos extraídos das sementes podem conter quantidades significativas de componentes bioativos, o que torna esses subprodutos com um potencial antioxidante elevado. As sementes de citros contêm 25% de casca, 40% de farinha (endosperma) e 35% de óleo, sendo que o óleo é composto basicamente por triacilgliceróis (> 95%) e, em menores quantidades, por ácidos graxos livres, hidrocarbonetos, esteróis e matéria não gordurosa, isto é, limonina e naringina, além de compostos bioativos e antioxidantes. Do ponto de vista nutricional o óleo da semente de laranja apresenta uma importante característica química, que é a distribuição dos ácidos graxos. Os seis principais ácidos graxos são: palmítico, palmitoléico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico (KOBORI, JORGE, 2005; REDA et al., 2005; VAUGHAN, GEISLER, 2008). O estudo dos componentes das sementes permite obter constituintes puros ou frações que tenham alto valor

agregado e a recuperação de óleos de sementes é uma opção promissora à utilização de subprodutos originários do processamento de frutos.

Os óleos vegetais são a maior fonte de óleos comestíveis, dentre os quais aproximadamente 75% são extraídos do endosperma das sementes, que se apresentam como fontes com relevância nutricional, industrial e farmacêutica. A extração de óleos de sementes de frutas pode constituir uma alternativa no aproveitamento de resíduos agroindustriais, sendo esses resíduos considerados custos operacionais para a indústria ou fonte de contaminação ambiental (MALACRIDA, JORGE, 2012). Os componentes das sementes devem ser melhor estudados a fim de se obter seus constituintes puros ou frações que tenham alto valor agregado (FERNANDES et al., 2006; REDA et al., 2005).

A presença de substâncias bioativas permite denominar os óleos extraídos das sementes de laranja como alimentos com propriedades funcionais. Dentre estas substâncias encontram-se os carotenoides, considerados bioativos, pois, apresentam atividades antioxidantes e anticancerígenas devido à sua capacidade de reagir com radicais livres e quelar o oxigênio singlete (COSTA, ROSA, 2008; FAGUNDES, COSTA, 2003; GOMES, 2007).

2.1.2. Antioxidantes

A ação dos antioxidantes se dá na prevenção da deterioração oxidativa dos lipídeos, assim como, em benefício à saúde, prevenindo o surgimento de doenças relacionadas ao envelhecimento (ARANHA, 2011). Subprodutos de origem agroindustrial, como as sementes de laranjas (*Citrus sinensis*), são fontes promissoras de óleos, ricos em carotenóides, compostos fenólicos, tocoferóis e fitoesteróis e podem apresentar compostos com potencial aplicação como

antioxidante em alimentos (LUZIA, BERTANHA, JORGE, 2010; JORGE, SILVA, ARANHA, 2016).

Vários métodos podem ser utilizados para a identificação e quantificação de antioxidantes naturais, dentre eles a determinação do β -caroteno, e os métodos de detecção de sequestradores de radicais livres, como o 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), são usados por serem métodos simples e altamente sensíveis (LUZIA, BERTANHA, JORGE, 2010; ARANHA, 2011).

Os carotenoides são compostos lipossolúveis, sintetizados pelos vegetais, e são os pigmentos naturais mais importantes encontrados na natureza. Seus benefícios à saúde estão associados à prevenção de câncer, doenças cardíacas e degeneração muscular, por ser um precursor da vitamina A. O estresse oxidativo podem ser causados por radicais de oxigênio, espécies reativas de oxigênio não radical como o peróxido de hidrogênio e o oxigênio singlete, que são responsáveis pela oxidação lipídica. Os carotenoides são conhecidos como excelentes desativadores de espécies reativas de oxigênio e sequestradores de radicais livres (ARANHA, 2011; RIOS, ANTUNES, BIANCHI, 2009).

Os métodos analíticos utilizados para a determinação da capacidade antioxidante são baseados em dois mecanismos de reação: transferência de átomo de hidrogênio e transferência de elétrons, os métodos com transferência de elétrons (TE) são reações do tipo redox que apresentam variação da coloração correlacionada com a concentração de espécies antioxidantes presentes na amostra. Para ambos os mecanismos de reação, o objetivo é determinar o efeito protetor da amostra contra os radicais livres, porém eles se diferenciam quanto ao

radical indicador, à cinética da reação e às reações laterais (CASTELO-BRANCO, TORRES, 2011).

Os efeitos defensivos de antioxidantes naturais presentes em frutas e vegetais estão relacionados a três grandes grupos: ácido ascórbico e fenólicos como antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como antioxidantes lipofílicos. Um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante é através da captura do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). O método do radical ABTS consiste na produção de um radical a partir de seu precursor, o ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (RUFINO et al., 2007). O radical ABTS tem coloração verde em contato com etanol, com absorbância em 734 nm, quando em contato com uma molécula de antioxidante doador de hidrogênio este radical é reduzido, tornando-se transparente.

A capacidade antioxidante foi determinada também pela redução do radical estável DPPH* através da ação dos antioxidantes presentes na amostra. O método do DPPH baseia-se no princípio de que um doador de hidrogênio é um antioxidante. O DPPH* é um radical livre, estável a temperatura ambiente, que produz uma coloração violeta quando em contato com metanol, com máxima absorbância a 515-520 nm. Este radical é reduzido na presença de uma molécula de antioxidante doador de hidrogênio. O DPPH* captura os hidrogênios onde observa-se uma diminuição da absorbância e da coloração que varia do violeta para o amarelo, passando para sua forma estável DPPH-H, que ocorre devido a sua reação com algum antioxidante ou com algum radical livre (BERGAMASCHI, 2010; LUZIA, BERTANHA, JORGE, 2010; SOARES et al., 2008).

2.2. Métodos de extração

O óleo vegetal é geralmente extraído utilizando o éter de petróleo como solvente em processo contínuo, onde as etapas para a remoção de solvente residual são onerosas e pouco eficientes, consequentemente, processos mais adequados são necessários (CERUTTI et al., 2012).

Os métodos mais comuns para extração de óleos de sementes incluem a extração com solventes orgânicos, que necessita de longos tempos e geralmente envolvem altas temperaturas de processo, o que pode ocasionar alterações químicas e a perda de qualidade do óleo. Outro método é a extração por prensagem em que as sementes são previamente secas para evitar a rancificação, porém apresentam baixo rendimento (FREITAS, 2007; LIU et al., 2014).

Técnicas não convencionais como a extração por ultrassom, que tem como vantagem a simplicidade do equipamento, a economia do custo inicial, a possibilidade de usar diferentes solventes para a extração, diminuindo notavelmente o tempo e aumentando o rendimento da extração em muitos produtos naturais. Esta técnica depende da intensidade da cavitação, do tempo de extração e temperatura (FREITAS, 2007; LIU et al., 2014). Outra opção vantajosa de extração de óleos de sementes é a utilização de fluido supercrítico, pois ocorre de forma muito rápida, apresentando boa transferência de massa devido a baixa viscosidade e alta difusividade do fluido, além de conseguir controlar o poder solvatante em função da pressão e temperatura, tornando a extração mais seletiva. A eficiência do processo de recuperação de óleo depende do rendimento, peso e teor de óleo de sementes (FREITAS, 2007).

2.2.1. Ultrassom de potência (UP) – Extração com solventes

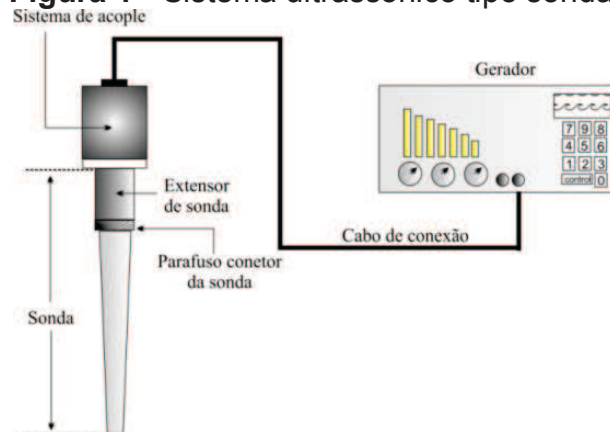
Atualmente o uso de UP é amplamente utilizado na indústria de alimentos, assim como nas áreas para a análise de sabor, de pesquisa ambiental e polímeros (LI et al., 2004). Quando é combinado com o método de extração com solventes convencionais tem demonstrado ser um método promissor na extração de compostos de vegetais e produtos alimentícios devido aos efeitos mecânicos que o ultrassom exerce sobre o processo, aumentando a penetração do solvente, através do rompimento das paredes das células, no produto e melhorando a transferência de massa no sistema devido ao aumento da difusão na estrutura celular produzida pela cavitação acústica (PINJARI, PANDIT, 2010; RODRIGUES et al., 2008). De todas as aplicações do ultrassom nos alimentos, as que geram maior expectativa na pesquisa do setor são as que oferecem efeitos estruturais no material, como quebra da parede celular, aumento na taxa de penetração do solvente (LI et al., 2004).

O UP tem sido reportado também em processos de extração de produtos como pectina de casca da uva (XU et al., 2014), compostos fenólicos de sementes da uva (DA PORTO et al., 2013), polissacarídeos de goji berry (*Lycium barbarium*) (LIU et al., 2014), alcaloides e esteroides da casca de batata (HOSSAIN et al., 2014), compostos fenólicos de vinho armazenado em carvalho (TAO et al., 2014), entre outros. Quando o processo de extração sólido-líquido é assistido por ultrassom são vistos benefícios de sua aplicação na intensificação da transferência de massa, maior penetração do solvente no tecido do material e no incremento dos efeitos capilares. Todos estes efeitos tornam um acesso mais fácil do solvente para a estrutura do material. Além disso, o colapso das bolhas pela cavitação perto das paredes celulares é esperado para produzir a ruptura da célula, facilitando uma boa

penetração do solvente no interior das células, por meio da onda aplicada pelo ultrassom (TOMA et al., 2007).

Similar ao processo de desidratação osmótica, as ondas ultrassônicas atuam sobre o solvente e o material, os equipamentos mais usados para ambos os processos são os tipo sonda e os banhos ultrassônicos. Os sistemas tipo sonda (Figura 1) baseiam-se na transmissão de energia ultrassônica produzida por um transdutor através de uma sonda metálica ao meio, podendo ser utilizada para aplicações tanto em líquidos como em gases.

Figura 1 - Sistema ultrassônico tipo sonda.



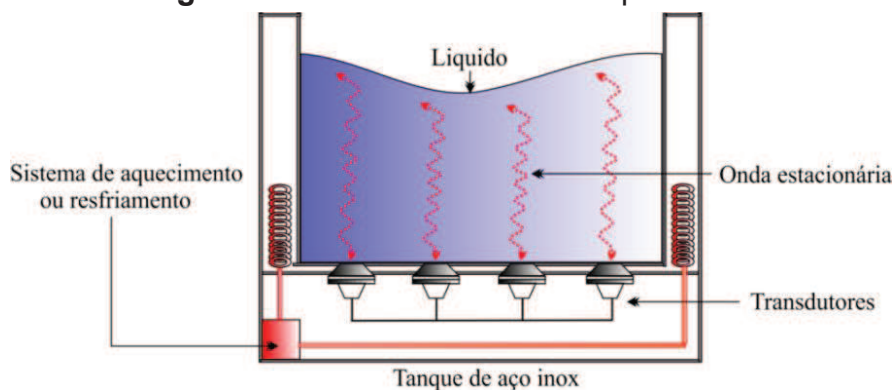
Fonte: YU, GIURGIUTIU, 2009.

O sistema constitui-se de um gerador que produz um sinal elétrico na frequência e potência desejada, um transdutor piezelétrico que transforma a energia elétrica em acústica e, uma sonda que transmite esta energia acústica ao meio a ser tratado. A intensidade da onda emitida, isto é, a amplitude de vibração da ponta da sonda, pode ser controlada alterando a potência aplicada pelo gerador. Praticamente todos os equipamentos dispõem de um controle de potência deste tipo, possibilitando a aplicação do sinal em forma de pulsos (PINJARI, PANDIT, 2010). Embora seja um dos sistemas mais utilizados atualmente, seu uso é restrito

para volumes pequenos, devido a limitação da distância do material à sonda (YU, GIURGIUTIU, 2009).

Por outro lado, os banhos ultrassônicos (Figura 2) tem a capacidade de processar maior quantidade de amostra, só que em batelada. Esse sistema consiste em um tanque de aço inox no qual se acoplam transdutores na sua base. Os transdutores são conectados a um equipamento eletrônico capaz de fornecer energia elétrica nas condições necessárias (frequência e intensidade) para excitá-los.

Figura 2 - Sistema ultrassônico tipo banho



Fonte: MASON, 1998.

O número de transdutores pode ser variável, sendo que todos devem vibrar à mesma frequência, com isso aumenta a quantidade de energia acústica que se produz por unidade de superfície radiante. A potência gerada dependerá principalmente do número de transdutores e a frequência do tipo de transdutor, porém a potência máxima alcançada não é superior aos sistemas tipo sonda (MASON, 2000).

2.2.2. Fluido supercrítico

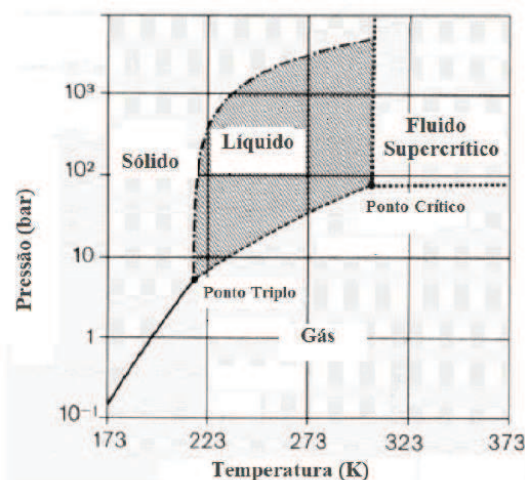
Os fluidos supercríticos são definidos como qualquer substância mantida acima da sua temperatura e pressão críticas, onde não se identifica a separação entre as fases líquida e vapor. A temperatura crítica é a temperatura mais alta, na

qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica é a pressão mais elevada, de forma que o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura do líquido. Na zona próxima a do ponto crítico é onde se produzem, com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações da densidade do fluido supercrítico e, por consequência, do seu poder solvente.

Todas estas características fazem com que os fluidos supercríticos tenham maiores taxas de transferência de massa (ARAÚJO, 1999; BERNARDO-GIL et al., 2002; BRUNNER, 1994; MAUL, 1999). Devido à baixa viscosidade e alta capacidade de difusão dos fluidos supercríticos, estes apresentam propriedades de transporte melhores que os líquidos, permitindo que as taxas de extração aumentem já que se difunde facilmente através de materiais sólidos o que resulta em melhores rendimentos de extração (ANDREO, JORGE, 2006; BERNA et al., 2000).

A Figura 3 mostra um diagrama de fases, sendo as regiões de gás, líquido, sólido e fluido supercrítico, apresentadas para o CO₂ puro.

Figura 3 - Representação esquemática do comportamento do CO₂ em diagrama de fase P-T.



Fonte: Adaptado de BENELLI, 2010.

Fluidos supercríticos são empregados para extração de substâncias como a cafeína do café, nicotina do tabaco, óleos de alimentos, de corantes de tecidos fabris ou como fase móvel em cromatografia de fluidos supercríticos (MARSAL et al., 2000).

2.2.3. Extração por Fluido Supercrítico (EFS)

A extração com fluido supercrítico é estudada desde 1822 por Barão Cagniard, e em 1879 Hannay e Hogart realizaram os primeiros estudos sobre o poder de solubilização de fluidos supercríticos. Mas só nos anos 1970 essa técnica teve crescente interesse devido ao aumento da preocupação com os resíduos de solvente restantes nos extratos oriundos de uma extração convencional com solventes (TAYLOR, 1996).

A Extração com Fluido Supercrítico (EFS) tem ganhado uma crescente atenção em relação às técnicas tradicionais, como a destilação de vapor e de extração com solventes orgânicos, para a recuperação de óleos comestíveis e essenciais, pois proporciona maior seletividade, menores tempos de extração e utiliza solvente com baixa toxicidade sendo facilmente separado do extrato (SERRA et al., 2010). Esses fluidos, quando submetidos à pressão e temperatura acima do ponto crítico torna-se supercrítico e várias de suas propriedades são alteradas. Um fluido supercrítico apresenta alta densidade similar à de um líquido, baixa viscosidade e alta difusividade de soluto nos fluidos, o que é semelhante à um gás, e difusão intermediária entre gases e líquidos, variando com a sua densidade. Por essas características, o fluido supercrítico alcança altas taxas de extração, facilitando a difusão em materiais sólidos e apresentando melhor rendimento. As características de gás ajudam na difusão do fluido na matriz e o acesso aos compostos de interesse, enquanto que as características de líquido proporcionam

melhor poder de solubilização (ANDREO, JORGE, 2006; BERNA et al., 2000; DOBARGANES-NODAR et al., 2002; TSAO, DENG, 2004).

Alguns fluidos podem ser aplicados como solvente em estado supercrítico, a sua escolha depende das condições de temperatura e pressão crítica (Tabela 1), além de custo, reatividade, e por apresentar resíduos após o processo.

Tabela 1 - Propriedades críticas de solventes que podem ser usados na extração supercrítica

Solvente	Temperatura Crítica (°C)	Pressão Crítica (bar)
Dióxido de carbono	31,10	73,76
Etano	32,50	48,84
Etanol	240,75	61,40
Etileno	9,30	50,36
Propano	96,70	42,45
Propileno	91,90	46,20
Ciclohexano	280,30	20,73
Benzeno	289,00	48,94
Tolueno	318,60	41,14
Clorotrifluormetano	28,90	39,21
Triclorofluormetano	198,10	44,70
Amônia	132,50	112,77
Água	374,20	220,48

Fonte: DIEHL, 2008

Pela Tabela 1, verifica-se que substâncias como o etano, etileno e clorotrifluormetano apresentam condições brandas de operação em relação à pressão e temperatura críticas, porém, há desvantagens em ser reativo, caro, pouco disponível e deixar resíduos após o processo. Portanto, entre eles o CO₂ supercrítico é um solvente muito utilizado visto que tem baixa toxicidade, é não inflamável, não corrosivo e permite a operação supercrítica a pressões relativamente baixas e próximas a temperatura ambiente, protegendo os extratos da degradação térmica e contaminação por solventes (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; GAÑÁN, BRIGNOLE, 2011; REVERCHON, DE MARCO, 2006).

De modo geral, o CO₂ supercrítico se comporta como um solvente lipofílico, mas, em comparação com solventes líquidos, tem a vantagem de que a sua seletividade, ou poder solvente é ajustável e pode ser adequada de maneira a exibir propriedades de gases e líquidos. No entanto, o dióxido de carbono supercrítico tem dificuldade de extrair compostos polares (PAPAMICHAIL et al., 2000; REVERCHON, 1997).

Esse método de extração, por apresentar elevado gradiente de pressão, pode produzir extratos livres de microrganismos, com uma maior vida útil que extratos obtidos com solventes orgânicos. Além de, depois de extraídos os compostos de interesse, a matriz pode ser usada em outras aplicações como alimentação animal por não possuir resíduo de solvente (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; MEZZOMO et al., 2010).

No processo de extração, vários fatores interferem no rendimento final, como o tipo de matriz envolvida, o tamanho da partícula, a quantidade de água presente na amostra e a relação entre o substrato e o composto a ser extraído. O conhecimento das propriedades termodinâmicas, como solubilidade e seletividade, e as propriedades de transporte, como taxa de transferência de massa, é fundamental para o projeto e ampliação da escala de processos a alta pressão (FERREIRA et al., 1999; REVERCHON, 1997).

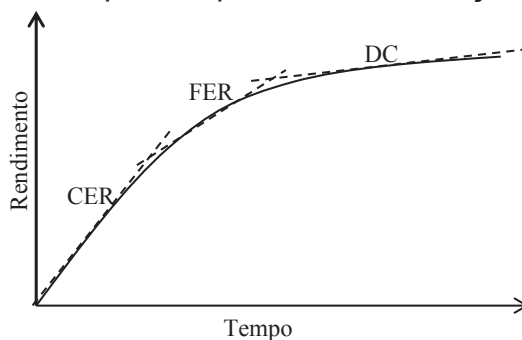
A seletividade pode ser determinada pela escolha do fluido supercrítico ou pelo ajuste de parâmetros como temperatura e pressão do processo dentro da região supercrítica, ou seja, controlando a densidade do solvente. A definição das condições de extração (temperatura e pressão) indica o poder de solvatação do solvente (CABRAL et al., 2007; LAROZE et al., 2010). A otimização entre o poder solvente e a seletividade em condições ideais de extração são escolhidas para

aumentar o poder de extração do solvente e evitar o uso de co-solventes, ocasionando a redução de compostos indesejáveis (REVERCHON, DE MARCO, 2006).

2.2.4. Cinética e curvas de extração

A cinética de extração e o conhecimento das variáveis operacionais permitem definir a quantidade de extrato acumulada durante o curso da extração, assim como fornecem informações confiáveis de pressão, temperatura e vazão de solvente, através do conhecimento termodinâmico do sistema, pela solubilidade e seletividade do solvente, assim como pela cinética do processo, devido à taxa de transferência de massa. A forma típica da curva ou cinética de extração é apresentada na Figura 4, e esta pode ser, basicamente, dividida em três regiões distintas (BENELLI, 2010; BRUNNER, 2005; NASCIMENTO E SANTOS, 2012).

Figura 4 - Comportamento típico de processo de extração com fluido supercrítico



Fonte: Adaptado de ALBUQUERQUE, 2008.

- 1) A curva inicia-se com o periodo de taxa de extração constante (CER, Constant Extraction Rate), na qual a superfície externa das partículas é coberta com o soluto, de fácil acesso, e a convecção é o mecanismo de transferência de massa dominante;

- 2) No segundo período ocorre a taxa de extração decrescente (FER, Falling Extraction Rate), na qual as falhas do soluto na camada externa da superfície da matriz aparecem e então inicia-se o mecanismo de difusão, fenômeno que atua combinado com a convecção;
- 3) Finalmente, ocorre o período de difusão controlada (DC, Diffusion controlled), onde a camada de soluto na superfície externa praticamente desapareceu e a transferência de massa ocorre principalmente por difusão do interior das partículas;

Embora a inclinação da primeira parte do gráfico possa ser dada pela solubilidade de equilíbrio uma linha reta pode ser causada também por uma resistência constante à transferência de massa e não prova que as condições de equilíbrio são atingidas durante a extração. Assim, a primeira parte da curva de extração contém informações no tipo de equilíbrio entre as fases fluida e sólida enquanto que segunda parte a taxa de extração decresce e o rendimento diminui, o qual é dado pela quantidade de substâncias extraíveis no substrato (BRUNNER, 2005). Quando a concentração inicial do soluto na matriz é baixa, o equilíbrio é geralmente controlado pela interação soluto-matriz e a concentração na fase fluida é muito menor do que a solubilidade (SOVOVÁ, 2005).

As melhores condições operacionais serão aquelas nas quais grandes quantidades de solutos são extraídas em um tempo relativamente curto, que é no período CER (PEREIRA, MEIRELES, 2010).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Preparo das amostras

Na pesquisa foram empregadas sementes de laranja (*Citrus sinensis*), variedade Pêra-rio, adquiridos em empresas de processamento de suco de laranja de São José do Rio Preto, SP. As amostras foram recolhidas semanalmente e levadas diretamente ao Laboratório de Medidas Físicas II do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos DETA/IBILCE.

Depois de separadas do restante do bagaço, as sementes foram lavadas com água destilada e secas em secador de leito fixo à temperatura de 50 °C por 72 horas, para redução do teor de umidade, visto que a quantidade de umidade presente na amostra interfere no rendimento da extração e na qualidade final do extrato (SINGH et al., 2002). Na sequência foram trituradas em um moedor de facas até atingir tamanho de partícula inferior a 2 mm. As sementes trituradas foram separadas em série de peneiras Tyler 10 Mesh para garantir o tamanho de partícula desejado. As sementes secas e moídas foram caracterizadas quimicamente, em triplicata, de acordo com os métodos de análises da AOAC (2005) e a quantidade de lipídeos pelo método Bligh-Dyer (1959) (Tabela 2), embaladas em sacos plásticos e armazenadas em dessecadores à temperatura ambiente para posterior utilização nos experimentos. A moagem e determinação de tamanho de partícula foram realizadas com porções de sementes de acordo com a utilização, evitando assim oxidação e perda de compostos nas sementes trituradas.

Tabela 2 - Métodos de análise para determinação da composição química dos resíduos

Análise	Número AOAC	Método	Técnica
Umidade	31.1.02	Secagem em estufa	Determinação gravimétrica da água contida por diferença de peso
Proteína	920.152 e 955.04c	Micro-Kjeldahl	Digestão do material orgânico e determinação titulométrica (meio ácido) empregando o Fator F = 6.25
Cinza	900.02	Incineração por mufla	Determinação gravimétrica por diferença de peso
Lipídeos	-	Bligh-Dyer	Determinação gravimétrica do extrato seco por diferença de peso
Carboidratos totais e Fibras	-	Indireto	Determinação pelo cálculo: Carboidratos totais e fibras = 100 – (Umid. + Prot. + Cinza + Lip.)

Fonte: Próprio autor

3.1.1. Determinação da umidade das sementes secas

Singh e colaboradores (2002), em estudos de extração de óleos de sementes, observaram a existência de uma faixa ótima para a umidade, visto que valores acima de 10 % reduzem o rendimento da extração. A umidade das sementes previamente secas foi determinada pelo método gravimétrico (AOAC, 2005), que considera a perda de massa da amostra até peso constante pela Eq. 1.

$$X = \frac{m_i - m_f}{m_f} \times 100 \quad (1)$$

onde X é a umidade em base seca, m_i massa inicial da amostra [g] e m_f massa final da amostra [g].

3.1.2. Determinação do tamanho de partícula (D_m)

O diâmetro médio das sementes de laranja secas e trituradas foi determinado por análise granulométrica através de um jogo de seis peneiras da série padrão Tyler (Tabela 3), com agitação durante 10 minutos, no qual o ensaio consistiu em

colocar 100 gramas de amostra sobre a peneira mais grossa a ser utilizada e agitar o conjunto de peneiras colocadas uma sobre as outras na ordem decrescente da abertura das malhas. Abaixo da última peneira é colocado o fundo, que recolhe a fração mais fina que consegue passar através de todas as peneiras da série.

Tabela 3 - Abertura das peneiras

Série Tyler (Mesh)	Abertura livre (mm)	Diâmetro do fio (mm)
10	1,651	0,899
14	1,168	0,635
20	0,833	0,437
28	0,589	0,318
35	0,417	0,310
48	0,295	0,234
Fundo	<0,295	<0,234

Fonte: Próprio autor

Após a agitação, a fração contida em cada peneira foi pesada para se calcular o diâmetro médio das partículas. Através da utilização da série de peneiras Tyler a Eq. 2 foi utilizada para obter o diâmetro médio das partículas.

$$\bar{D}_m = \frac{1}{\sum \frac{X_n}{\bar{a}_n}} \quad (2)$$

em que: X_n é a fração mássica retida na peneira n [kg/kg total]; e $\bar{a}_n$ é a média entre a abertura de duas peneiras [mm].

3.1.3. Determinação da Densidade aparente (ρ_{ap})

A determinação da densidade aparente do material consiste na inserção da amostra em um recipiente de volume conhecido, de modo que a quantidade de amostra que excede os limites do recipiente possa ser removida. Esse método considera os poros das partículas bem como os espaços entre as partículas. Dessa forma, a densidade aparente foi determinada empiricamente utilizando um recipiente de volume fixo 300 cm³, que foi preenchido com a amostra, e em seguida, a massa contida foi pesada em béquer previamente tarado. Este procedimento foi repetido

por dez vezes, e assim, obteve-se a densidade aparente pela relação entre a média das massas e o volume do leito fixo conforme Eq. 3.

$$\rho_{ap} = \frac{\bar{M}}{V} \quad (3)$$

onde $\bar{M}$ é a média das massas [g] e V é o volume do leito fixo [cm³].

3.2. Extração por Ultrassom de Potência (UP)

Os experimentos de sonicação foram realizados no Laboratório de Medidas Físicas II do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos DETA/IBILCE, e empregado o equipamento de ultrassom (Figura 5) modelo VCX 1500 HV (Sonics & Material, Inc., USA) que trabalha na frequência de 24 kHz e potência máxima de 1500 W.

Figura 5 - Equipamento ultrassônico VCX 1500 HV



Fonte: SONICS®, 2016.

O procedimento de extração ocorreu de forma pulsada, com tempos de pulso ligado de 50 segundos e pulso desligado de 10 segundos, visando diminuir o aumento da temperatura no processo de extração. Outro método utilizado foi o resfriamento da cápsula através da passagem de água à temperatura de 5 °C pela camisa, com a utilização de banho ultratermostatizado (Marconi MA-184, Brasil),

com a finalidade de evitar temperaturas muito elevadas durante o processo de sonicação (Figura 6).

Figura 6 - Aparato para extração assistida por ultrassom



Fonte: Próprio autor

O procedimento de extração foi realizado nos tempos de 30 a 150 minutos, para os solventes Hexano, Álcool Isopropílico, e a mistura de Hexano e Álcool Isopropílico (1:1), nas potências de 300, 900 e 1500 Watts, conforme exposto na Tabela 4. Após os tempos de extração, a suspensão óleo/solvente foi filtrada em sistema de filtração à vácuo (Figura 7).

Figura 7 - Sistema de filtração à vácuo.



Fonte: Próprio autor

Tabela 4 - Planejamento experimental da extração assistida por ultrassom.

Ensaio	Tempo (minutos)	Potência (W)	Solvente	Ensaio	Tempo (minutos)	Potência (W)	Solvente
1	30	300	Hexano	28	120	300	Hexano
2			Álc. Isop.	29			Álc. Isop.
3			Mistura	30			Mistura
4		900	Hexano	31		900	Hexano
5			Álc. Isop.	32			Álc. Isop.
6			Mistura	33			Mistura
7		1500	Hexano	34		1500	Hexano
8			Álc. Isop.	35			Álc. Isop.
9			Mistura	36			Mistura
10	60	300	Hexano	37	150	300	Hexano
11			Álc. Isop.	38			Álc. Isop.
12			Mistura	39			Mistura
13		900	Hexano	40		900	Hexano
14			Álc. Isop.	41			Álc. Isop.
15			Mistura	42			Mistura
16		1500	Hexano	43		1500	Hexano
17			Álc. Isop.	44			Álc. Isop.
18			Mistura	45			Mistura
19	90	300	Hexano				
20			Álc. Isop.				
21			Mistura				
22		900	Hexano				
23			Álc. Isop.				
24			Mistura				
25		1500	Hexano				
26			Álc. Isop.				
27			Mistura				

Fonte: Próprio autor

O filtrado, contendo o solvente e os compostos extraídos, foi transferido para balão de rotoevaporador, previamente tarado e pesado, e posteriormente o solvente foi eliminado em evaporador rotativo (Tecnal TE-211, Brasil) com banho termostático e sistema de vácuo (Figura 8), mantendo a temperatura do banho em 70 °C, após a eliminação total do solvente o balão foi novamente pesado para quantificação do extrato obtido.

Figura 8 - Evaporador rotativo com banho termostático e sistema de vácuo.



Fonte: Próprio autor

O óleo extraído foi transferido para frasco de vidro âmbar com batoque e tampa de rosca, devidamente limpo, seco e identificado.

3.2.1. Rendimento de extração

Por meio do rendimento de extração determinou-se os melhores parâmetros para obtenção do óleo em relação ao tipo de solvente utilizado, condições de potência e tempo de processo para a extração com aplicação de ultrassom. Da mesma forma foram determinados os melhores parâmetros de temperatura e pressão de solvente para extração por fluido supercrítico. Para isso, o rendimento (Y) foi determinado por gravimetria, de acordo com a metodologia de Li et al. (2004), pela Eq. (4)

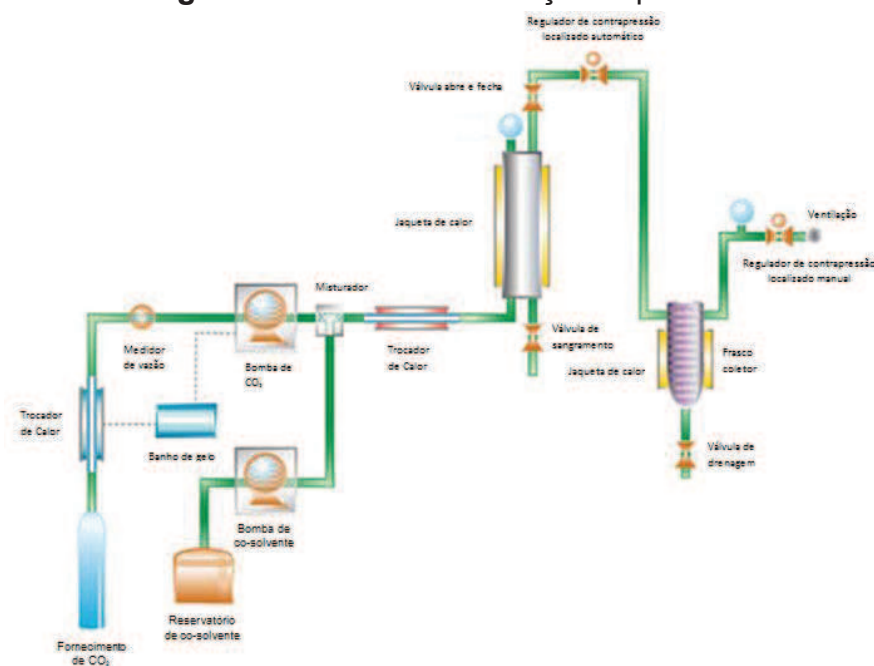
$$Y = \frac{m_e/m_t}{m_l/m_t} = \frac{x_{el}}{x_{tl}} \quad (4)$$

onde m_e é a massa de lipídios extraídos [g], o m_t massa total da amostra [g], m_l a massa total de lipídios da amostra triturada [g], x_{el} a fração de lipídios extraída e x_{tl} a fração de lipídios total da amostra.

3.3. Extração com fluido supercrítico (EFS)

O processo de extração supercrítica consiste em promover o contato entre a matriz vegetal e o CO₂ supercrítico no extrator em condições preestabelecidas de pressão (P) e temperatura (T). No estudo da otimização do processo de extração supercrítica empregou-se um planejamento experimental através do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). O controle de P é feito pelo acionamento da bomba de alta pressão e pelo controle de uma válvula de alívio (*back pressure*) na saída do sistema. O extrato, separado do gás, foi continuamente coletado em um frasco coletor imerso em banho de gelo. O volume do CO₂ foi obtido a partir da vazão do mesmo, controlada por um medidor de vazão acoplado ao sistema. A escolha do solvente levou em consideração a segurança para a saúde (*Generally Recognized as Safe - GRAS*). O sistema de extração supercrítica (SFE-Thar) era automático e sua operação e controle de variáveis operacionais (T, P) ocorreu via software (Process Suit for SFE, Thar, Waters, Milford, USA) (Figura 9).

Figura 9 - Sistema de extração supercrítica

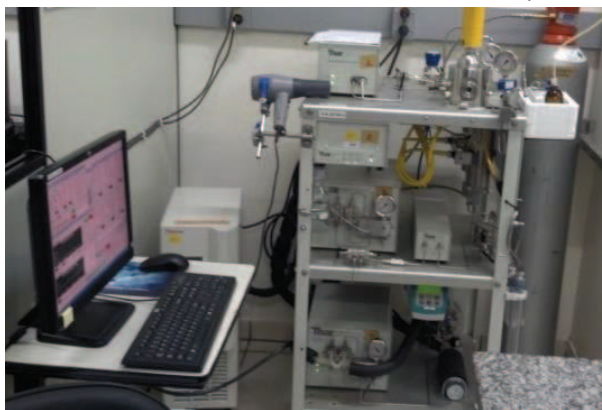


Fonte: Adaptado de WATERS CORPORATION, 2015.

O procedimento de EFS foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais (LTAPPN), no Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP), *Campus* de Pirassununga.

Foi utilizado um extrator de leite fixo do sistema TharSCF (Waters, Milford, EUA) (Figura 10), com câmara de extração de volume fixo de 300 cm³, foram acondicionados 20 gramas de sementes de laranjas secas e trituradas e completado o volume restante com pérolas de vidro.

Figura 10 - Extrator de leite fixo - Sistema TharSCF (Waters, Milford, EUA)



Fonte: Próprio autor

No planejamento experimental trabalhou-se com os mesmos limites de temperatura (50 – 70 °C) utilizados durante a secagem das sementes de laranja e a pressão (200-300 bar) foi escolhida com base na literatura para extração de óleo de sementes de pitanga (NASCIMENTO E SANTOS, 2012).

Todos os experimentos foram realizados durante 6 horas de extração a um fluxo de CO₂ de 8 g/min, condições ótimas da relação entre o tempo e a vazão determinadas em ensaios preliminares. No processo de extração foram obtidos os rendimentos dos extratos calculados pela relação entre a massa destes com a massa de sementes trituradas acondicionadas no extrator.

3.3.1. Planejamento Experimental

O planejamento experimental por Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) é uma ferramenta usada na otimização de processos em que suas características de rotação permite identificar respostas em torno do ponto central sem alterar a variância da predição. Foram considerados cinco níveis com quatro pontos estrela e triplicata no ponto central (Tabela 5). Para determinar as melhores condições de P e T foi utilizado um DCCR de 2^2 , que gerou uma matriz com 11 ensaios (Tabela 6) (RODRIGUES, IEMMA, 2009; DOGENSKI, 2013).

Tabela 5 - Níveis dos dois fatores, Pressão e Temperatura, no DCCR.

Fatores	Níveis				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Pressão (bar)	179	200	250	300	321
Temperatura (°C)	46	50	60	70	74

$\alpha = 1,41$

Fonte: Próprio autor

Tabela 6 - Matriz do DCCR 2^2 com 3 repetições do ponto central e 4 axiais para o estudo do efeito da Pressão e Temperatura.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis		ρ CO ₂ (kg/m ³)
	P	T	P (bar)	T (°C)	
1	+1	+1	300	70	787,95
2	+1	-1	300	50	871,03
3	-1	+1	200	70	661,43
4	-1	-1	200	50	785,14
5 ^c	0	0	250	60	786,49
6 ^c	0	0	250	60	786,49
7 ^c	0	0	250	60	786,49
8	+1,41	0	321	60	842,38
9	-1,41	0	179	60	673,32
10	0	+1,41	250	74	716,68
11	0	-1,41	250	46	852,56

c= pontos centrais

ρ =densidade do CO₂

Fonte: Próprio autor

Os experimentos foram realizados de forma aleatória, e o tempo de extração foi determinado através de cinética de extração, e padronizado um tempo de 6 horas.

3.3.2. Cinética e curvas de extração

Para o estudo da cinética do processo de extração foi obtida uma curva de extração. O rendimento global ou a massa do extrato obtida (m_{EXT}) são obtidos pelas curvas de extração, pela relação entre a concentração de soluto na fase solvente versus o tempo de extração apresentada na Eq. (5) (KITZBERGER, 2005).

$$m_{EXT} = Q_{CO_2} \int_0^{t_{Total}} y(t) dt \quad (5)$$

onde: m_{EXT} é a massa de extrato obtida [kg]; Q é a vazão de solvente [kg/s]; t é o tempo [s] e $y(t)$ é a concentração de soluto na fase solvente [kg/kg] (BRUNNER, 1994).

De acordo com Sovová (1994), os modelos matemáticos que descrevem os sistemas com fluido supercrítico permitem determinar as condições ótimas de operação, através da predição das curvas de extração. A maioria dos modelos matemáticos usados para descrever o mecanismo de transferência de massa emprega parâmetros como vazão do solvente, teor de óleo extraível e características das partículas sólidas como diâmetro e porosidade do leito (KITZBERGER, 2005).

Os experimentos cinéticos foram determinados levando em consideração a massa de soluto extraído em função do tempo de extração. Foi escolhido o ponto central do DCCR para o estudo da cinética, que foi estudada durante 10 horas de extração dinâmica, os frascos de coleta, previamente tarados, foram trocados a cada 30 minutos gerando uma curva cinética expressa em massa de soluto extraído em relação ao tempo.

3.4. Determinação do calor específico

Foram realizadas misturas hexano-torta (sementes de laranja moída) e álcool isopropílico-torta nas concentrações de 0,00, 0,05, 0,10, 0,15 e 0,20 g torta/ml solvente.

O calor específico foi medido por calorimetria diferencial analítica usando um DSC 8000 (Perkin Elmer, Shelton, USA) para as misturas hexano-torta (sementes de laranja moída) e álcool isopropílico-torta na faixa temperaturas entre 15 e 36 °C. O equipamento DSC foi calibrado com Índio (p.f 156,48 K, $\Delta H_f = 28,45$ kJ/kg) a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Gás nitrogênio com 99.5 % de pureza foi usado como gás de purga a um fluxo de aproximadamente 20 mL/min. Painelas de alumínio para voláteis 24.01±0.04 mg (ref. 0219-0062, Perkin Elmer, USA) foram usadas para construção da linha base e como porta amostra do material de referência (ARCHED, 1993), discos de safira sintética de 3 mm de diâmetro (ref. 0219-1268, Perkin Elmer, Shelton, USA) , assim como as amostras. No caso das amostras, foram tomados os pesos do material com e sem panela. Painelas da linha base, material de referência e das amostras foram submetidas ao seguinte programa térmico: 15 °C isotérmico por 1 min, taxa de aquecimento a 5 °C/min até 36 °C, isotérmico a 36 °C, de acordo com a metodologia empregada pela ASTM International (ASTM E1269, 2005). O programa PYRIS 10.1 (Perkin Elmer, Shelton, USA) foi empregado para as análises térmicas. O calor específico (c_p , kJ/kg °C) da semente de laranja foi calculado de acordo com a Eq. (6).

$$c_p = \frac{D_s}{W_s \theta} \quad (6)$$

onde D_s representa o deslocamento vertical das curvas térmicas entre a panela da amostra e do material de referência em um nível de temperatura [mW], W_s é a massa da amostra [mg] e, θ é a taxa de aquecimento [$^{\circ}\text{C/s}$].

3.4.1. Modelagem matemática e validação estatística do calor específico

Os resultados experimentais do calor específico foram analisados através do conjunto de modelos: linear (c_{p1} , (Eq. 7)), quadrático (c_{p2} , (Eq. 8) e c_{p5} , (Eq. 11)), logarítmico (c_{p3} , (Eq. 9)), de potência (c_{p4} , (Eq. 10)) e polinomial (c_{p6} , (Eq. 12)), como uma função da concentração de solvente [$^{\circ}\text{G.L}$] e temperatura [$^{\circ}\text{C}$].

$$c_{p1} = \alpha_1 + \alpha_2 x + \alpha_3 T \quad (7)$$

$$c_{p2} = \alpha_1 + \alpha_2 x + \alpha_3 T^2 \quad (8)$$

$$c_{p3} = \alpha_1 + \alpha_2 x + \alpha_3 \ln(T) \quad (9)$$

$$c_{p4} = \alpha_1 + \alpha_2 x + T^{\alpha_3} \quad (10)$$

$$c_{p5} = \alpha_1 + \alpha_2 T + \alpha_3 x^2 \quad (11)$$

$$c_{p6} = \alpha_1 + \alpha_2 x + \alpha_3 T + \alpha_4 T^2 + \alpha_5 T^3 \quad (12)$$

A modelagem matemática e análise estatística foram realizadas usando o programa computacional Matlab® R2011b (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA) através das funções “nlinfit” e “nlparci”. A função nlinfit estima os parâmetros dos modelos através de uma regressão linear, enquanto a função de nlparci determina os intervalos de confiança da estimativa dos parâmetros $\alpha = 95 \%$. O coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}) (Eq. 13) e o erro médio relativo (MRE) (Eq. 14) foram usados para avaliar o desempenho e a exatidão dos modelos ajustados, respectivamente (SHESKIN, 2004).

$$R^2_{adj} = 1 - \left(\frac{n-1}{n-n_p} \right) (1 - R^2) \quad (13)$$

$$MRE = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|Y_i - Y_i^*|}{Y_i^*} \quad (14)$$

onde R^2 é o coeficiente de correlação entre os dados experimentais e calculados pelo modelo correspondente, Y e Y^* representam os valores estimados e experimentais, respectivamente, n é o número de valores experimentais e, n_p é o número de parâmetros do modelo.

3.5. Caracterização dos óleos extraídos

Após a extração pelos métodos de ultrassom e com fluido supercrítico os extratos foram armazenados em vidro âmbar à temperatura de -20°C , visando, dessa forma, evitar a degradação dos compostos. Os óleos foram avaliados em relação à quantidade de carotenos totais e pela sua atividade antioxidante, verificando que estes podem ser considerados produtos bioativos.

3.5.1. Quantificação de Carotenoides totais

Os carotenoides totais foram analisados por leitura de absorbância por meio de espectrofotômetro (Pró-Análise UV 1600) utilizando éter de petróleo como solvente e como “branco” no momento da análise, em triplicata segundo metodologia descrita por Rodrigues-Amaya (2001). O comprimento de onda utilizado foi de 450 nm, considerando que o β -caroteno é majoritário no óleo de sementes de laranja. Para o cálculo de carotenoides totais foi utilizada a Eq. 15.

$$\text{ppm de Carotenoides totais} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs. volume (mL)} \cdot 10^4}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \text{peso da amostra (g)}} \quad (15)$$

em que $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ para éter de petróleo = 2592.

A descoloração do β -caroteno também é amplamente utilizada para medir a capacidade antioxidante do bioativo pelo eliminador de radicais livres formados durante a oxidação do ácido linoleico (BARCIA et al., 2015).

3.5.2. Capacidade antioxidante

Os métodos analíticos utilizados para a determinação da capacidade antioxidante são baseados nos mecanismos de transferência de átomo de hidrogênio e transferência de elétrons. No presente trabalho foram avaliados dois métodos para determinação da capacidade antioxidante, baseados na transferência de elétrons.

3.5.2.1. Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico).

O método ABTS utilizado foi descrito por Re et al. (1999) onde a solução de ABTS foi preparada a partir de 7 mM de ABTS em persulfato de potássio (2,45 mM) e depois incubada no escuro durante 16 h à temperatura ambiente. A solução de trabalho ABTS foi preparada por diluição da solução mãe com etanol para uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm (espectrofotômetro Pró-Análise UV 1600). Foram utilizados 30 μ L da amostra e misturados com 3,0 mL de solução de trabalho ABTS (PERTUZATTI, 2014). A absorbância da mistura foi medida a 734 nm após 25 min de incubação a 30° C de temperatura em banho maria e calculou-se a percentagem de inibição da absorbância pela Eq. 16. A curva padrão foi construída utilizando a solução de Trolox (2000-20 μ M).

$$I\% \text{ ABTS} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100 \quad (16)$$

onde: I% é a porcentagem de inibição do radical ABTS; Ac é a absorbância do controle (branco) e At é a absorbância do teste (amostra).

3.5.2.2. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).

Determinado conforme metodologia Brand-Williams e colaboradores (1995), que consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH*). Para a determinação da atividade antioxidante dos óleos foram feitas diluições da amostra onde 500 µL de amostra foram diluídos em 500 µL de metanol e misturados vigorosamente em vortex até homogeneização total. 100 µL de amostra diluída foram deixados reagir com 3,9 mL da solução de DPPH durante 24 horas no escuro. A amostra em branco consistiu em 100 µL de metanol adicionado a 3,9 mL de DPPH (PERTUZATTI, 2014). A solução de DPPH foi preparada por diluição da solução mãe com metanol para uma absorbância de $1,1 \pm 0,002$ a 517 nm (espectrofotômetro Pró-Análise UV 1600). A atividade de eliminação de radicais foi calculada pela equação 17.

$$I\% \text{ DPPH} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100 \quad (17)$$

onde: I% é a porcentagem de inibição do radical DPPH; Ac é a absorbância do controle (branco) e At é a absorbância do teste (amostra).

Para a quantificação da capacidade antioxidante foi elaborada uma curva padrão de Trolox, utilizando as porcentagens de inibição (ABTS e DPPH), onde os resultados foram expressos em µmol de equivalente Trolox/g de amostra.

4. RESULTADOS

4.1. Análises físico-químicas

Na Tabela 7 estão representados os resultados das análises físico-químicas para as sementes de laranja.

Para a determinação de umidade em estufa ($105 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 horas encontrou-se valores de 46,96 %, próximo aos valores encontrados por Rosa (2013) de 48,5 % para a semente de laranja e por Saipari e colaboradores (1997) em estudo com citros que se apresentou em uma faixa de 31,5 % a 52,7 % dependendo da variedade.

Tabela 7 - Análises físico-químicas da semente de laranja

Análise	Semente de laranja
Umidade	$46,96 \pm 0,67$
Cinzas	$2,53 \pm 0,07$
Proteínas	$11,37 \pm 2,13$
Lipídeos	$38,12 \pm 0,73$
Carboidratos e fibras totais	4,02
Valores expressos em porcentagem média $\pm$ desvio padrão (b.s.)	

Fonte: Próprio autor

Para cinzas, Malacrida (2009) e Rosa (2013) encontraram, para semente de laranja, 2,7 % e 2,72 % respectivamente, valores próximos ao verificado neste experimento de 2,53 %. A quantidade de proteínas ficou em torno 11 %, um pouco abaixo dos valores encontrados por Malacrida (2009) de 14,1 % e por Saipari e colaboradores (1997) para semente de citros de 17,4 %. Os valores de lipídeos em base seca foram de 38,12 %, próximos ao encontrado por Rosa (2013) que se mostra em torno de 36 % e Ajewole e Adeyeye (1993) que apresentaram valores próximos a 35 % para sementes de laranja.

O teor de umidade das sementes pode ter influência no rendimento da extração, o que depende das características da matriz, dos compostos presentes e do soluto de interesse. Altos teores de umidade podem interferir na atuação do solvente durante a solubilização de compostos específicos. Benelli (2010) em estudo com bagaço de laranja obteve rendimentos, com a utilização da amostra seca para a extração com CO₂ supercrítico, aproximadamente 124 % maiores do que com a amostra úmida. Para se garantir uma extração eficiente é necessário ter amostras com umidade inferior a 10 % (b.s), visto que, valores superiores podem causar degradação do composto extraído além de ter influencia na quantidade e qualidade dos extratos (BRUNNER, 1994; REVERCHON, 1997). Portanto, o tempo de secagem de 72 horas na temperatura de 50 °C, em secador de leito fixo, garantiu que as sementes, ao final da secagem, apresenta umidade de 5,09 ± 0,03 % (b.s) (Tabela 8), ficando dentro do limite de 10 % ideal para extração de óleos vegetais.

Tabela 8 - Umidade das sementes de laranja secas e trituradas	
Ensaio	% Umidade (b.s)
1	5,17
2	5,08
3	5,09
Média ± desvio padrão	5,09 ± 0,03

Fonte: Próprio autor

A determinação do tamanho de partícula é um parâmetro muito importante, pois relaciona a sua resistência interna a transferência de massa. A redução do tamanho de partícula permite aumentar o rendimento de extração, visto que se aumenta a área de contato entre o sólido e o solvente. Porém, partículas muito pequenas podem formar aglomerados dificultando a passagem do solvente pelo leito (OLIVEIRA, 2010). Os dados apresentados na Tabela 9 correspondem aos valores de massa retida nas peneiras, usados para calcular o diâmetro médio das partículas. Valores de diâmetro médio entre 0,25 e 2,00 mm são ideais para a extração de óleos

vegetais, sendo que o diâmetro de 0,70 mm encontrado para as sementes de laranja estão dentro do intervalo recomendado, assim como o valor encontrado para sementes de pitanga de 0,48 mm por Nascimento e Santos (2012), e 0,34 mm por Garmus e colaboradores (2014).

Tabela 9 – Massa de sementes de laranja secas e trituradas retidas nas peneiras.

Série Tyler (Mesh)	Abertura livre (mm)	Massa retida (g)	Massa retida (%)
10	1,651	30,9158	30,92
14	1,168	25,4994	25,50
20	0,833	21,9887	21,99
28	0,589	16,4933	16,49
35	0,417	3,0135	3,01
48	0,295	1,5807	1,58
Fundo	<0,295	0,3217	0,32

Fonte: Próprio autor, 2017.

Os valores da massa acondicionada para as dez repetições assim como a densidade aparente (ρ_{ap}) estão expostos na Tabela 10, apresentando valor de 0,38 g/cm³ para sementes de laranja secas e trituradas. Benelli (2010) encontrou para bagaço de laranja, densidade aparente igual a 0,57 g/cm³, já para sementes de pitanga, Nascimento e Santos (2012) e Garmus e colaboradores (2014) encontraram valores de 0,48 g/cm³ e 0,46 g/cm³, respectivamente.

Tabela 10 - Densidade aparente das sementes de laranja secas e trituradas

Ensaio	Massa da semente (g)	Densidade (g/cm³)
1	114,978	0,383
2	115,479	0,385
3	115,138	0,384
4	115,142	0,384
5	115,962	0,387
6	116,182	0,387
7	115,351	0,385
8	115,370	0,385
9	115,401	0,385
10	115,840	0,386
Média ± desvio padrão	115,484 ± 0,278	0,385 ± 0,001

Fonte: Próprio autor

4.2. Extração por Ultrassom de Potência

A etapa inicial da extração das amostras de sementes de laranja por UP consistiu em avaliar o efeito das variáveis, tempo de extração, tipo de solvente e potência do ultrassom sobre o rendimento da extração, que foi calculado com base na relação da fração de lipídios extraída e da fração de lipídios total da amostra.

O maior rendimento foi observado para o ensaio 31, no tempo de 120 minutos, na potência de 900 W, para o solvente Hexano, que apresentou uma extração de 36,74 % com rendimento de 0,96, conforme apresentado em destaque na Tabela 11.

Tabela 11 - Rendimento da extração assistida por ultrassom

Ensaio	Tempo (min)	Potência (W)	Solvente	Óleo (%)	Y
1	30	300	Hexano	30,16	0,79
2			Álcool Isopropílico	27,09	0,71
3			Mistura	30,80	0,81
4		900	Hexano	33,22	0,87
5			Álcool Isopropílico	27,13	0,71
6			Mistura	30,33	0,80
7		1500	Hexano	31,85	0,84
8			Álcool Isopropílico	31,16	0,82
9			Mistura	30,95	0,81
10	60	300	Hexano	33,30	0,87
11			Álcool Isopropílico	26,75	0,70
12			Mistura	29,31	0,77
13		900	Hexano	35,11	0,92
14			Álcool Isopropílico	31,30	0,82
15			Mistura	31,67	0,83
16		1500	Hexano	33,11	0,87
17			Álcool Isopropílico	29,16	0,77
18			Mistura	30,03	0,79
19	90	300	Hexano	30,24	0,79
20			Álcool Isopropílico	26,39	0,69
21			Mistura	31,90	0,84
22		900	Hexano	34,67	0,91
23			Álcool Isopropílico	30,01	0,79
24			Mistura	32,60	0,86
25		1500	Hexano	33,93	0,89
26			Álcool Isopropílico	31,76	0,83
27			Mistura	32,20	0,84

(continua)

Tabela 11 - Rendimento da extração assistida por ultrassom

(continuação)

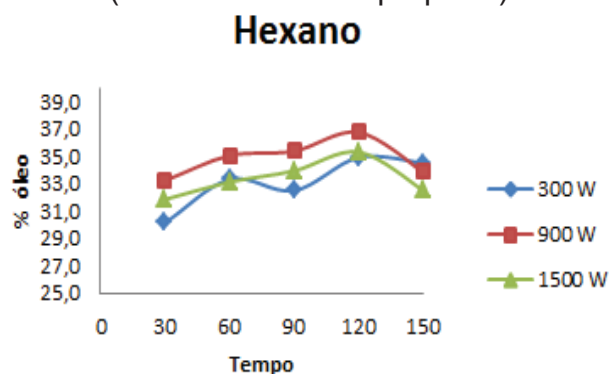
Ensaio	Tempo (min)	Potência (W)	Solvente	Óleo (%)	Y
28		300	Hexano	34,90	0,92
29			Álcool Isopropílico	26,69	0,70
30			Mistura	31,81	0,83
31	120	900	Hexano	36,74	0,96
32			Álcool Isopropílico	32,41	0,85
33			Mistura	33,64	0,88
34		1500	Hexano	35,30	0,93
35			Álcool Isopropílico	31,52	0,83
36			Mistura	32,67	0,86
37	150	300	Hexano	34,49	0,90
38			Álcool Isopropílico	26,34	0,69
39			Mistura	29,58	0,78
40		900	Hexano	33,85	0,89
41			Álcool Isopropílico	32,65	0,86
42			Mistura	32,95	0,86
43		1500	Hexano	32,51	0,85
44			Álcool Isopropílico	32,44	0,85
45			Mistura	32,47	0,85

Fonte: Próprio autor, 2017.

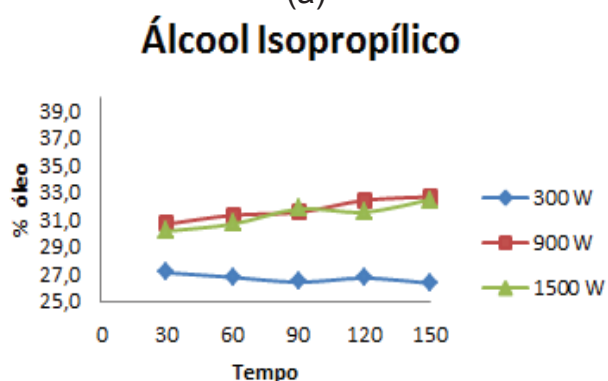
A Figura 11 apresenta os valores do rendimento das extrações em relação ao tempo, para os diferentes solventes estudados, onde, verifica-se que o maior rendimento foi obtido para as potências de 900 W.

Ao avaliar a influência da potência, verifica-se que o aumento da potência até 1500 W causou uma diminuição no rendimento da extração, não apresentando o comportamento esperado, pois entende-se que com o aumento da potência ocorre também o aumento de temperatura, aumentando a solubilidade e a difusividade do composto a ser extraído (ZHANG et al., 2008). Porém o comportamento inverso pode ser atribuído ao fato de que o aumento da potência apresenta relação direta com a cavitação e com o aumento da temperatura, sendo que este acréscimo da cavitação passa por um máximo e começa a decrescer.

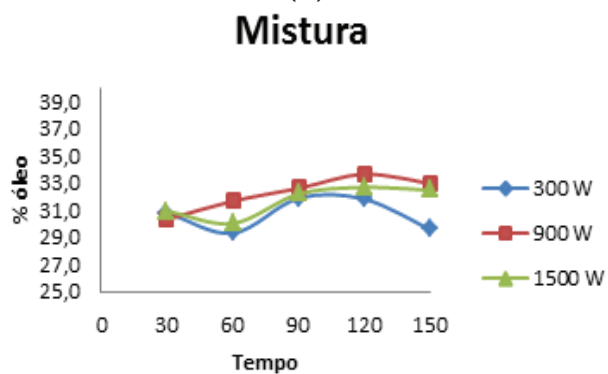
Figura 11 - Porcentagem de óleo em relação ao tempo nas potências de 300, 900 e 1500W e solventes (a) Hexano, (b) Álcool Isopropílico e (c) Mistura 1:1 (Hexano:Álcool Isopropílico)



(a)



(b)



(c)

Fonte: Próprio autor, 2017.

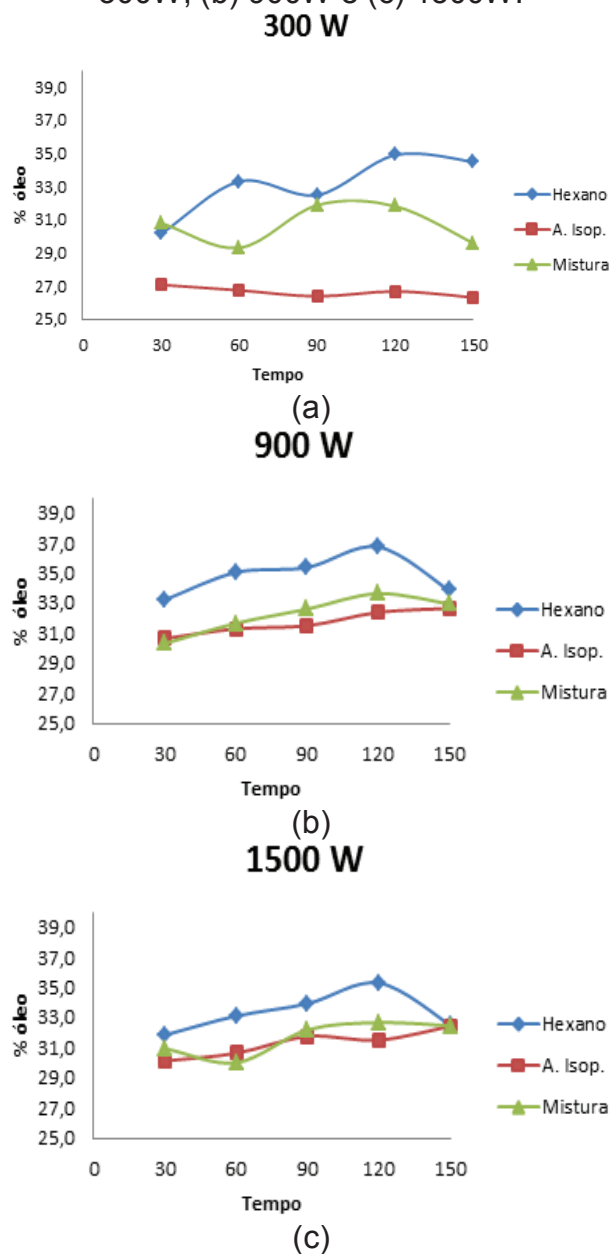
Ao avaliar a influência da potência, verifica-se que o aumento da potência até 1500 W causou uma diminuição no rendimento da extração, não apresentando o comportamento esperado, pois entende-se que com o aumento da potência ocorre também o aumento de temperatura, aumentando a solubilidade e a difusividade do composto a ser extraído (ZHANG et al., 2008). Porém o comportamento inverso

pode ser atribuído ao fato de que o aumento da potência apresenta relação direta com a cavitação e com o aumento da temperatura, sendo que este acréscimo da cavitação passa por um máximo e começa a decrescer.

Este máximo é explicado pelo fato de que um aumento da temperatura é seguido também de um aumento do número de núcleos de cavitação. Todavia, com o aumento contínuo da temperatura a tensão superficial diminui, resultando em um aumento da pressão de vapor no interior das cavidades, o que causa um amortecimento da onda de choque quando a cavitação implode, diminuindo assim a força com que a onda atinge a matriz (ZHANG et al., 2009; QU et al., 2010; EIKANI et al., 2012).

Este mesmo efeito pode ser observado na Figura 12 para as diferentes potências de ultrassom aplicadas. No tempo de 150 minutos houve uma queda no rendimento da extração, para os solventes Hexano e a Mistura (Hexano:Álcool Isopropílico), sendo que com o aumento do tempo verifica-se um aumento na temperatura do processo de extração, esse comportamento também foi verificado por Mattana e colaboradores (2015) na extração de óleo essencial de folhas de pariparoba, esse efeito pode estar associado à perda de voláteis pois com o aumento do tempo percebeu-se também o aumento da temperatura e, conseqüentemente, volatilização de compostos presentes nos óleos (WATERMAN, 1993; MANN, 1994; MATTANA et al., 2015). Para todas as potências estudadas o melhor rendimento se deu no tempo de 120 minutos, muito superior ao tempo de 20 minutos para sementes de romã (GOULA, 2013) e 30 minutos para óleo de linhaça (ZHANG et al., 2008).

Figura 12 - Porcentagem de óleo em relação ao tempo para os solventes Hexano, Álcool Isopropílico e Mistura 1:1 (Hexano:Álcool Isopropílico) nas potências (a) 300W, (b) 900W e (c) 1500W.

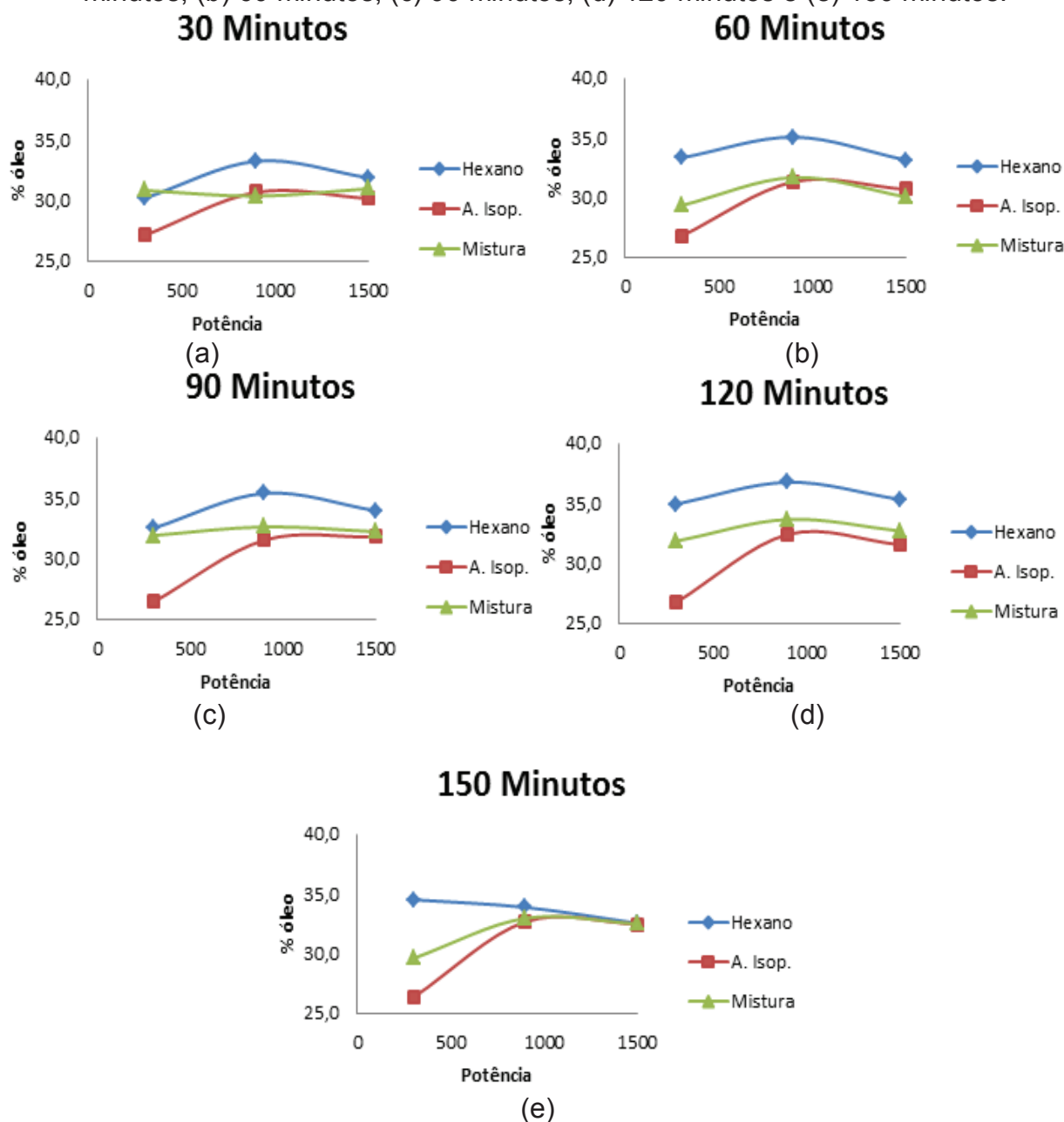


Fonte: Próprio autor, 2017.

A Figura 12 ainda relaciona os diferentes solventes com as potências estudadas, de forma que o solvente Hexano apresentou melhor rendimento de extração em todos os ensaios. Este fator também pode ser observado na Figura 13, que relaciona a influência do solvente no rendimento da extração nos tempos de

processo, os resultados mostram que a eficácia do processo de extração é uma função da afinidade molecular entre solvente e soluto (LI et al., 2004).

Figura 13 - Porcentagem de óleo em relação à potência para os solventes Hexano, Álcool Isopropílico e Mistura 1:1 (Hexano:Álcool Isopropílico) nos tempos (a) 30 minutos, (b) 60 minutos, (c) 90 minutos, (d) 120 minutos e (e) 150 minutos.



Fonte: Próprio autor, 2017.

Percebe-se que para todos os tempos de extração estudados o solvente Hexano apresentou melhor rendimento, seguido pela mistura dos solventes

sugerindo maior concentração de compostos apolares na matriz vegetal das sementes de laranja, sendo assim, tendo baixo rendimento para o solvente Álcool Isopropílico visto que este apresenta maior polaridade. Já para soja, Li et al. (2004), verificou que a extração teve maior rendimento para a mistura de solventes (Hexano:Álcool Isopropílico), indicando que o extrato apresenta compostos de alta e baixa polaridade.

4.3. Extração com fluido supercrítico (EFS)

Nas extrações do óleo de sementes de laranja com CO₂ supercrítico segundo o DCCR 2² foi gerado como resposta o rendimento dos extratos que foi analisado estatisticamente pelo programa Statistica v. 7 (STATSOFT, Inc. 2004) e apresentado por superfície de resposta para determinar a influência das variáveis pressão (P) e temperatura (T). No processo de extração foram testadas diferentes condições experimentais para verificar a influência das variáveis operacionais (P e T) no rendimento do extrato conforme apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 - Matriz do DCCR 2² no estudo do efeito da pressão e temperatura no rendimento do óleo de semente de laranja obtido por extração por fluido supercrítico.

Ensaio	P	T	P (bar)	T (°C)	ρ CO ₂ (kg/m ³)	R (%)	Y
1	1	1	300	70	787,95	34,98	0,92
2	1	-1	300	50	871,03	29,72	0,79
3	-1	1	200	70	661,43	6,08	0,16
4	-1	1	200	50	785,14	20,76	0,55
5 ^c	0	0	250	60	786,49	28,69	0,76
6 ^c	0	0	250	60	786,49	28,86	0,76
7 ^c	0	0	250	60	786,49	28,61	0,76
8	1,41	0	321	60	842,38	32,21	0,85
9	-1,41	0	179	60	673,32	5,35	0,14
10	0	1,41	250	74	716,68	20,05	0,53
11	0	-1,41	250	46	852,56	30,23	0,80

Y – rendimento

^c Ponto Central

Fonte: Próprio autor, 2017.

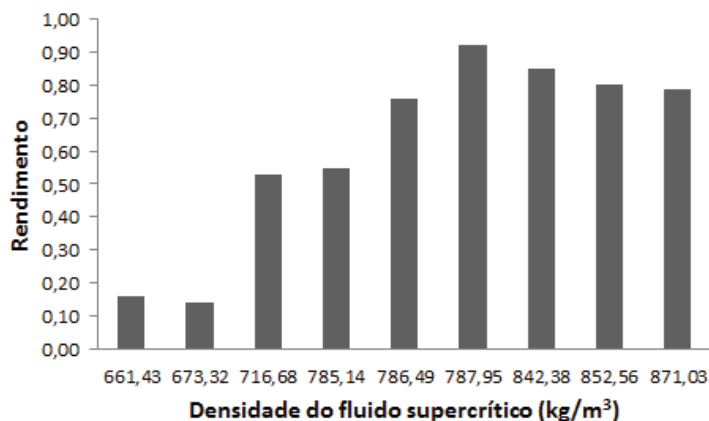
Segundo Martínez et al. (2003), o rendimento global da extração para o processo de ESC em leito fixo de partícula é definido como a relação da fração de lipídios extraída pela fração de lipídios total da amostra, utilizando solvente em condições pré-estabelecidas de T e P em um tempo de processo pré-determinado.

Pela Tabela 12, percebe-se que em condição isotérmica de 60 °C apresentou um aumento no rendimento, sendo que para valores de pressão de 179, 250 e 321 bar verifica-se o rendimento de 0,14, 0,76 e 0,85, respectivamente. Este desempenho é justificado pela elevação da densidade do solvente supercrítico com a pressão, resultando em aumento do poder de solvatação do CO₂ (BRUNNER, 1994).

O poder de solubilização do CO₂ supercrítico depende da sua densidade. Na região supercrítica, a densidade aumenta com o aumento da pressão a temperatura constante e diminui com o aumento da temperatura a pressão constante. Para cada ensaio ou par de valor de P e T nas condições operacionais supercríticas existe um valor correspondente da densidade do CO₂ que foi calculada pela equação de Angus et al. (1976). Quando se avalia o rendimento global relacionando-o com as densidades do CO₂ supercrítico (Figura 14), constata-se que as densidades elevadas fazem com que o fluido supercrítico tenha um maior poder de solvatação do soluto e, conseqüentemente, maiores rendimentos destes extratos.

Entretanto, o aumento do rendimento pela influência da densidade chega à um máximo que pode ser explicado pelo efeito que a temperatura exerce sobre o poder de solvatação do solvente, portanto, não há como discutir separadamente os efeitos da densidade, pressão e temperatura do CO₂ supercrítico no rendimento da extração. Os valores de rendimento foram determinados para cada condição de T e P e para um tempo total de 6 horas de extração.

Figura 14 - Rendimento das extrações de óleo de semente de laranja em função da densidade do CO₂ supercrítico.

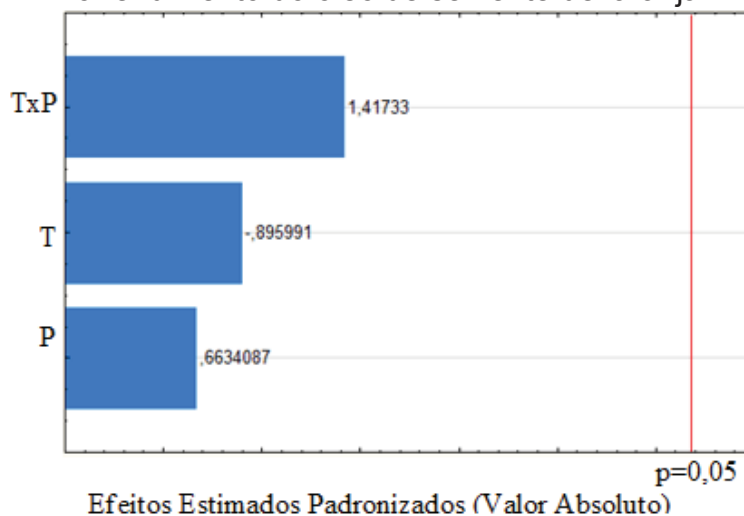


Fonte: Próprio autor, 2017.

Nas proximidades do ponto crítico do solvente um pequeno aumento na pressão aumenta substancialmente a densidade do solvente e, conseqüentemente, aumenta o poder de solvatação do fluido, por outro lado, o aumento da temperatura diminui o poder de solvatação do solvente, isso eleva a pressão de vapor do soluto. Portanto, a variação da solubilidade com a temperatura depende da pressão e este fato explica a variação do rendimento dos extratos. Este comportamento é comum em extratos vegetais e foi também observado por Boutin e Badens (2009), quando obtiveram extratos supercríticos de sementes de oleaginosas.

Na análise dos resultados obtidos para o rendimento da extração, segundo o DCCR 2² empregado, nota-se que os efeitos principais dos ensaios correspondentes ao modelo de primeira ordem representado no diagrama de Pareto (Figura 15) que as variáveis P e T, e a interação entre as duas variáveis, não influenciaram o rendimento total da extração.

Figura 15 - Diagrama de Pareto das variáveis (Pressão e Temperatura) estudadas no rendimento do óleo de semente de laranja.



Fonte: Próprio autor, 2017.

Já que as variáveis pressão, temperatura e a interação entre elas não tiveram nenhum efeito sobre a resposta (R), o modelo matemático de primeira ordem que indica o comportamento do rendimento do óleo (R) em função da P e T não foi significativo no intervalo de confiança de 95% como mostra a análise de variância (ANOVA). O modelo também não pode ser considerado preditivo visto que o coeficiente de determinação (R^2) foi baixo, com valor de 0,666, conforme apresentado na Tabela 13.

Tabela 13 - Análise de variância (ANOVA) do modelo de primeira ordem para o rendimento global de óleo de sementes de laranja.

Fatores	Somas dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p	R^2
P (bar)	15,812	1	15,812	0,440	0,554	0,666
T (°C)	28,843	1	28,843	0,803	0,436	
PxT	72,173	1	72,173	2,009	0,251	
Erro	107,784	3	35,928			
Total	538,329	6				

Fonte: Próprio autor, 2017.

Embora o modelo não prediga a influência da P e T no rendimento da extração, os dados experimentais nos permite identificar que o rendimento aumentou

com o aumento da P e, conseqüentemente, com o aumento do poder de solvatação do CO₂.

Já para a análise estatística do modelo quadrático, ou de segunda ordem, verifica-se que os coeficientes de regressão quadráticos não foram significativos, com exceção da variável linear para a P, no intervalo de confiança de 95%, em destaque, apresentou efeito significativo para o rendimento do óleo de semente de laranja (R). O modelo matemático de segunda ordem (Eq. 19) foi significativo para esta variável P, como mostra a análise de variância (ANOVA). Porém, o modelo também não pode ser considerado preditivo visto que o coeficiente de determinação (R^2) foi baixo, com valor de 0,722, conforme apresentado na Tabela 14.

$$Y = 28,7096 + 8,6606 P \quad (19)$$

Tabela 14 - Análise de variância (ANOVA) do modelo quadrático para o rendimento global de óleo de sementes de laranja.

Fatores	Somas dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	R ²
P (bar) (L)	459,429	1	459,429	14,754	0,012	0,722
P (bar) (Q)	99,780	1	99,780	3,204	0,133	
T (°C) (L)	13,592	1	13,592	0,437	0,538	
T (°C) (Q)	6,837	1	6,837	0,220	0,659	
P(L)xT(L)	10,244	1	10,244	0,329	0,591	
Erro	155,698	5	31,140			
Total	1021,197	10				

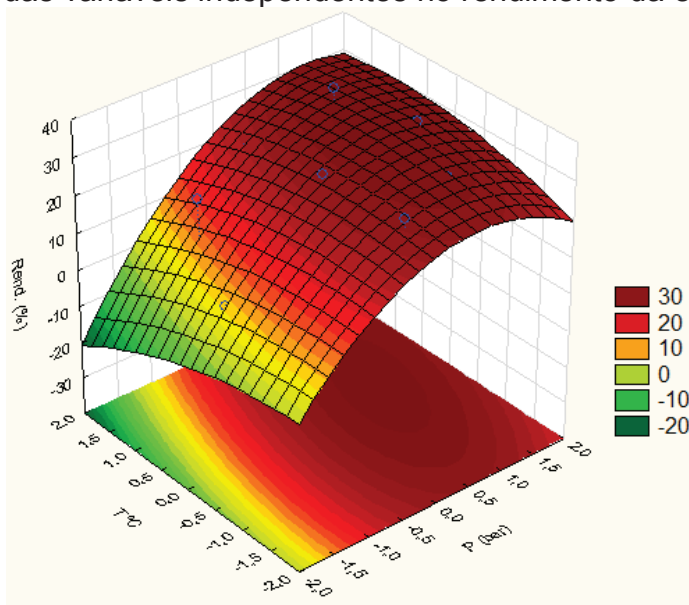
Fonte: Próprio autor, 2017.

A superfície de resposta gerada pelo modelo quadrático (Figura 17) que descreve o rendimento da extração de óleo de semente de laranja em função de P e T, na faixa de valores estudados, indica a influência da P, sendo que o aumento dessa variável proporciona o aumento do rendimento, mesmo comportamento observado por Nascimento e Santos (2012) no estudo com sementes de pitanga e por Oliveira (2013) com grãos de café verde.

Pelo gráfico de superfície de resposta (Figura 17) verifica-se que os melhores rendimentos foram obtidos em condições de P e T mais elevadas, comportamento também encontrado para Liu et al. (2009) na extração de óleo de sementes de romã, verificando-se que a pressão teve um efeito linear positivo sobre o rendimento de óleo.

Em pressões baixas, o rendimento do óleo extraído foi pequeno, no entanto, como uma elevação da pressão de extração, o rendimento aumentou significativamente, mais provavelmente, devido à melhoria da solubilidade em óleo que resultou do aumento da densidade do solvente. Altos rendimentos (R) foram obtidos para toda a faixa de temperatura estudada (Figura 16), por isso não se tem um pico ótimo na superfície e talvez não se tenha obtido melhores ajustes dos dados experimentais aos modelos gerados.

Figura 16 - Superfície de resposta gerada pelo modelo quadrático que apresenta os efeitos das variáveis independentes no rendimento da extração.



Fonte: Próprio autor, 2017.

4.3.1. Cinética de extração

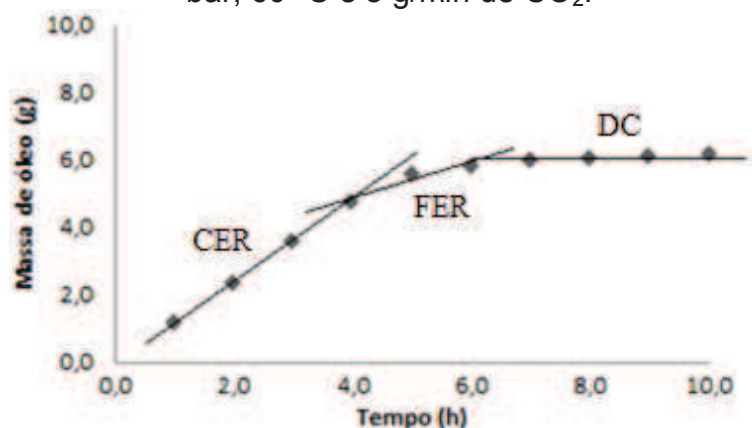
As curvas cinéticas de extração fornecem informações relacionadas à pressão, temperatura e vazão de solvente, que podem ser utilizadas para a determinação de parâmetros como tempo de extração, determinação da solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema ajudando no desenvolvimento do processo de extração supercrítica (SILVA, 2004; TAKEUCHI, 2009).

De acordo com a literatura, a curva de extração não é uma função linear do tempo e são geralmente divididas em três etapas, determinadas pela massa total de óleo extraído em função do tempo de extração. Na primeira região da curva (CER), a transferência de massa é controlada pela convecção do soluto na superfície da matriz vegetal; na região seguinte (FER), a velocidade do processo é determinada pelos efeitos convectivos que se verifica a diminuição da transferência de massa pela difusão do soluto do centro da matriz para a superfície; e na terceira região (DC), não se tem soluto facilmente disponível na matriz e a taxa de transferência de massa é controlada principalmente pelo fenômeno difusivo no sólido (BRUNNER, 1994; FERREIRA, MEIRELES, 2002; MOURA et al., 2012).

Pela análise do comportamento da curva de extração do soluto com o tempo, foram utilizados os parâmetros de temperatura e pressão (60 °C e 250 bar) no ponto central do DCCR, observou-se um comportamento típico para a EFS em função das variáveis de processo, em que a maior massa de óleo extraída se dá na etapa de taxa constante (CER), esse comportamento também foi observado por Galvão (2009) para estudo da cinética de extração de óleo de semente de linhaça em que o maior rendimento foi obtido durante a etapa CER da curva para condições de extração com temperatura de 50 °C e pressão de 250 bar. Após 6 horas de extração,

o processo chegou à etapa difusiva (DC) (Figura 17), dessa forma padronizou-se o tempo de extração para os demais experimentos.

Figura 17 - Curva de extração com fluido supercrítico de semente de laranja a 250 bar, 60 °C e 8 g/min de CO₂.



Fonte: Próprio autor, 2017.

4.4. Determinação do calor específico

Ao se determinar o calor específico por calorimetria exploratória diferencial analítica via norma ASTM E1269 para faixa de massa concentração (0,0-2,0) ml de solvente/g torta e temperaturas entre (15-36) °C e simular os dados experimentais da mistura utilizando seis modelos em função da concentração e da temperatura verificou-se que, para hexano/torta o modelo quadrático ajustou-se melhor aos dados ($R^2_{adj} = 0,935$ e $MRE = 0,226$ %) (Tabela 15) e o modelo logarítmico apresentou melhor ajuste aos dados ($R^2_{adj} = 0,958$ e $MRE = 0,264$ %) para a mistura álcool isopropílico/torta (Tabela 16).

Tabela 15 - Resultados da modelagem de calor específico (cp) da mistura hexano-torta.

Modelo	Parâmetros	Valor	C.I (95 %)	R^2_{adj}	MRE (%)
c_{p1}	α_1 [kJ/kg °C]	2.196	2.185 – 2.206	0.923	0.271
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.296	-0.332 – -0.259		
	α_3 [1/°C]	2.631×10^{-3}	2.257×10^{-3} – 3.004×10^{-3}		
c_{p2}	α_1 [kJ/kg °C]	2.228	2.221 – 2.234	0.918	0.281
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.296	-0.333 – -0.258		
	α_3 [1/°C ²]	5.093×10^{-5}	4.341×10^{-5} – 5.844×10^{-5}		
c_{p3}	α_1 [kJ/kg °C]	2.062	2.031 – 2.092	0.916	0.281
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.296	-0.334 – -0.257		
	α_3 [adimensional]	6.299×10^{-2}	5.350×10^{-2} – 7.247×10^{-2}		
c_{p4}	α_1 [kJ/kg °C]	1.077	2.031 – 2.092	0.916	0.279
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.296	-0.333 – -0.258		
	α_3 [adimensional]	5.332×10^{-2}	4.649×10^{-2} – 6.015×10^{-2}		
c_{p5}	α_1 [kJ/kg °C]	2.188	2.178 – 2.197	0.935	0.226
	α_2 [1/°C]	2.631×10^{-3}	2.285×10^{-3} – 2.976×10^{-3}		
	α_3 [g torta ² /ml sol ²]	-1.433	-1.594 – -1.272		
c_{p6}	α_1 [kJ/kg °C]	2.249	2.081 – 2.417	0.920	0.265
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.296	-0.333 – -0.258		
	α_3 [1/°C]	-4.140×10^{-3}	-2.551×10^{-2} – 1.723×10^{-2}		
	α_4 [1/°C ²]	2.738×10^{-4}	-5.939×10^{-4} – 1.141×10^{-3}		
	α_5 [1/°C ³]	-3.535×10^{-6}	-1.484×10^{-5} – 7.776×10^{-6}		

Fonte: Próprio autor, 2017.

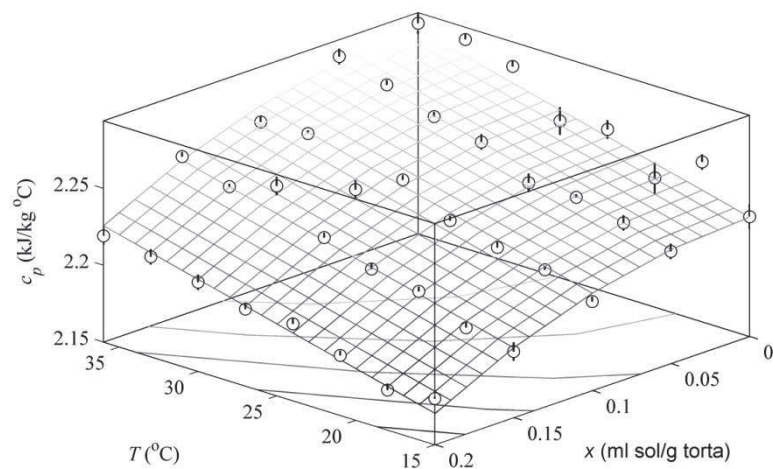
Tabela 16 - Resultados da modelagem de calor específico (cp) da mistura álcool isopropílico-torta.

Modelo	Parâmetros	Valor	C.I (95 %)	R^2_{adj}	MRE (%)
c_{p1}	α_1 [kJ/kg °C]	2.440	2.429 – 2.451	0.958	0.270
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.494	-0.533 – -0.455		
	α_3 [1/°C]	3.014×10^{-3}	$2.616 \times 10^{-3} - 3.412 \times 10^{-3}$		
c_{p2}	α_1 [kJ/kg °C]	2.477	2.469 – 2.485	0.951	0.291
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.494	-0.536 – -0.452		
	α_3 [1/°C ²]	5.787×10^{-5}	$4.946 \times 10^{-5} - 6.627 \times 10^{-5}$		
c_{p3}	α_1 [kJ/kg °C]	2.284	2.253 – 2.315	0.958	0.264
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.494	-0.533 – -0.455		
	α_3 [adimensional]	7.283×10^{-2}	$6.321 \times 10^{-2} - 8.245 \times 10^{-2}$		
c_{p4}	α_1 [kJ/kg °C]	1.304	1.278 – 1.331	0.918	0.274
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.494	-0.533 – -0.455		
	α_3 [adimensional]	6.027×10^{-2}	$5.360 \times 10^{-2} - 6.693 \times 10^{-2}$		
c_{p5}	α_1 [kJ/kg °C]	2.425	2.178 – 2.197	0.898	0.440
	α_2 [1/°C]	3.014×10^{-3}	$2.389 \times 10^{-3} - 3.639 \times 10^{-3}$		
	α_3 [g torta ² /ml sol ²]	-2.273	-2.564 – -1.981		
c_{p6}	α_1 [kJ/kg °C]	2.413	2.235 – 2.591	0.957	0.266
	α_2 [g torta/ml sol]	-0.494	-0.533 – -0.455		
	α_3 [1/°C]	5.724×10^{-3}	$-1.686 \times 10^{-2} - 2.831 \times 10^{-2}$		
	α_4 [1/°C ²]	-7.701×10^{-5}	$-9.939 \times 10^{-4} - 8.399 \times 10^{-4}$		
	α_5 [1/°C ³]	5.985×10^{-7}	$-1.135 \times 10^{-5} - 1.255 \times 10^{-5}$		

Fonte: Próprio autor, 2017.

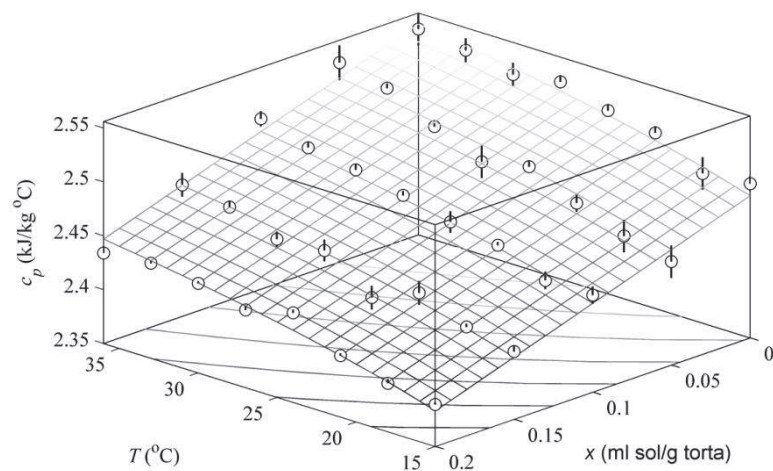
As Figuras 18 e 19 apresentam os dados experimentais (○) e calculados (□) do calor específico da mistura hexano/torta e álcool isopropílico/torta, respectivamente, empregando o modelo exponencial.

Figura 18 - Dados experimentais ($\circ$) e calculados ($\square$) do c_p da mistura hexano-torta empregando o modelo quadrático. Linhas verticais indicam o desvio padrão da triplicata.



Fonte: Próprio autor, 2017.

Figura 19 - Dados experimentais ($\circ$) e calculados ($\square$) do c_p da mistura álcool isopropílico-torta empregando o modelo logarítmico. Linhas verticais indicam o desvio padrão da triplicata.



Fonte: Próprio autor, 2017.

Os resultados obtidos neste trabalho podem ser utilizados no futuro para a simulação dos processos de extração de sementes de laranja para a indústria em geral.

4.5. Carotenoides totais

A determinação dos carotenoides totais foi realizada para os óleos que apresentaram a forma de extração com maior rendimento, variando os tipos de solventes e tipo de extração, e estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Carotenoides totais dos óleos de sementes de laranja

Tipo de extração	Tipo de solvente	Ensaio	µg β-caroteno/g de amostra
Ultrassom	Hexano	31	19,83 ^a
	Álcool Isopropílico	41	22,76 ^a
	Mistura	33	9,22 ^b
EFS	CO ₂	1	19,99 ^a

Os resultados representam a média das análises em triplicada e as médias seguidas das mesmas letras (a) nas colunas não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p > 0,05$). EFS (extração com fluido supercrítico)

Fonte: Próprio autor, 2017.

Pela Tabela 17, verifica-se que o Álcool Isopropílico apresentou maior poder de extração dos carotenoides, porém, não diferindo estatisticamente dos demais tipos de solventes analisados. Os solventes Hexano e CO₂ apresentaram valores aproximados de rendimento de extração para os carotenoides por serem solventes com as mesmas características de polaridade. A mistura foi o solvente que apresentou menor poder de extração, diferindo estatisticamente dos demais, indicando que interação entre os dois solventes influenciou negativamente na extração dos carotenoides. Os valores encontrados estão próximos aos verificados por Aranha (2011) para o óleo de sementes de laranja, variedade Valência que foi de 19,24 (µg β-caroteno/g) e um pouco inferior ao encontrado para a variedade Pera-rio de 26,69 (µg β-caroteno/g).

4.6. Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada para os óleos que apresentaram maior rendimento nos ensaios de extração, onde variaram os tipos de solventes e tipo de extração, portanto foi comparada a capacidade antioxidante dos óleos extraídos com Hexano, Álcool Isopropílico e a mistura dos dois solventes e pela extração com Fluido Supercrítico (CO₂), os resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) de óleo de semente de laranja.

Tipo de extração	Tipo de solvente	DPPH μM TE/g de amostra	CA %	ABTS μM TE/g de amostra
Ultrassom	Hexano	128,53 ^b	74,24 ^b	Nd
	Álc. Isop.	133,75 ^a	82,43 ^a	Nd
	Mistura	132,79 ^{ab}	80,92 ^{ab}	Nd
EFS	CO ₂	130,06 ^{ab}	76,64 ^{ab}	Nd

Os resultados representam a média das análises em triplicada e as médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p > 0,05$). nd = não detectado. TE: Equivalente Trolox, CA: capacidade antioxidante.

Fonte: Próprio autor, 2017.

O óleo de semente de laranja demonstra capacidade sequestradora do radical DPPH*, como observado por Aranha (2011), que verificou 70,17% de capacidade antioxidante para o óleo de semente de laranja da variedade Pera-rio através de extração por prensa a frio. Para o extrato de semente de pitanga, extraído com álcool etílico, Luzia, Bertanha e Jorge (2010) encontraram 92,15% de capacidade antioxidante através do método DPPH.

Pertuzatti (2009) verificou a capacidade antioxidante na casa, polpa e fruto inteiro de mirtilo, em diversas variedades, com valores variando de 232,9 μM TE/g, para a polpa (variedade Delite) até 7943,4 μM TE/g para casca (variedade Bluebelle).

Portanto, pode-se afirmar que o tipo de extrato e a forma de extração influenciam na capacidade antioxidante, isso pode ser verificado na Tabela 18, onde visualiza-se as diferenças da capacidade antioxidante para os diferentes métodos e solventes utilizados na extração do óleo de semente de laranja.

A capacidade antioxidante, através do método ABTS, não foi detectada nas condições de análise estudada. Apesar do princípio de ação dos métodos ABTS e DPPH serem o mesmo (transferência de elétrons), a forma como eles conseguem chegar ao radical pode ser distinta, a estrutura da molécula pode estar estericamente mais impedida devido aos seus grupos protetores, dificultando o acesso ao radical, o que explica o fato de não ter sido apresentados valores de capacidade antioxidante para o ensaio de ABTS. Villaño et al. (2006), constataram que os ácidos fenólicos siríngico, vanílico e p-cumárico, e a procianidina B3 não reagem com o radical ABTS⁺; entretanto, apresentam elevada capacidade antioxidante pelo método DPPH.

5. ESTUDOS COMPARATIVOS DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO

Os resultados das extrações do óleo de semente de laranja estão demonstrados na Tabela 19, onde são apresentados os valores da eficiência da extração em relação ao rendimento em massa de óleo obtido para os dois métodos e os diferentes tipos de solventes aplicados às amostras de sementes de laranja, como também as características de atividade antioxidante dos óleos de semente de laranja obtidos pelos métodos de extração estudados no projeto.

Tabela 19 - Rendimento de extração para os diferentes métodos e solventes utilizados

Solvente	Rendimento (%)	Carotenoides ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g de amostra}$)	DPPH ($\mu\text{M TE/g de amostra}$)
Hexano	35,72 ^a	19,83 ^b	128,53 ^a
Álc. Isop.	32,52 ^a	22,76 ^b	133,75 ^a
Mistura	33,09 ^a	9,22 ^a	132,79 ^a
EFS	32,47 ^a	19,99 ^b	130,06 ^a

Os resultados representam a média das análises em triplicada e as médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p > 0,05$)

Fonte: Próprio autor

Pela análise estatística através da ANOVA e teste Tukey 5% (STATISTIC 7®), os valores de rendimento não apresentam diferença significativa para os métodos de extração e solventes utilizados. Verifica-se também que o melhor solvente para extração do β -Catoteno foi o Álcool Isopropílico, o qual diferiu significativamente dos demais solventes e métodos de extração. A retenção das propriedades antioxidante, através do método DPPH, não diferiu significativamente entre os solventes, mas pode-se perceber, pela Tabela 18, que o solvente Álcool Isopropílico, foi o que teve melhor desempenho.

Spiro et al. (1990) *apud* Mesomo (2013) estudaram a extração de 6-gingerol de gengibre jamaicano a 30 °C usando vários solventes: diclorometano, etanol, álcool isopropílico e uma mistura de acetona e água (80:20 (v:v)). As maiores quantidades de 6-gingerol foram extraídas com álcool isopropílico.

Os métodos utilizados para determinação da atividade antioxidante, não devem ser aplicados isoladamente, pois, devido à complexidade dos compostos com capacidade antioxidante presente em estruturas vegetais, podem não fornecer resultados seguros. A escolha desses métodos deve ser feita rigorosamente, de acordo com os tipos de antioxidantes a serem testados.

Os métodos de análises de atividade antioxidante *in vitro* têm se tornado relevante, uma vez que auxiliam na busca por substâncias bioativas, bem como na

seleção de matéria-prima para estudo. A escolha do método é importante para comprovar a presença de compostos antioxidantes, que previnem o ataque de radicais livres e doenças degenerativas. Cada método de análise possui particularidades, portanto testes preliminares devem ser realizados a fim de adequar o ensaio a ser adotado. Devido aos diversos tipos de radicais e aos diferentes sítios de ação, dificilmente haverá um único método capaz de representar de forma segura e precisa a verdadeira atividade antioxidante de uma substância (SUCUPIRA et al., 2012).

6. CONCLUSÃO

Com as análises da composição centesimal das sementes de laranja, pode-se destacar sua utilização como fonte de lipídeos, sendo uma alternativa para o aproveitamento comercial desse resíduo. Ademais, apresenta também elevado conteúdo de proteínas, carboidratos e fibras, podendo ser empregadas para alimentação humana e animal.

As propriedades físico-químicas dos óleos extraídos foram compatíveis com a de óleos convencionais e de boa qualidade, podendo ser aplicado para a alimentação, além de apresentarem quantidades significativas de compostos bioativos, podendo ser boa fonte desses compostos.

Os métodos de extração empregados demonstraram que em condições apropriadas a semente de laranja é uma excelente fonte de lipídeos, devido ao alto rendimento da extração encontrado, utilizando Ultrassom de Potência e Fluido Supercrítico, não apresentando diferença significativa entre os métodos e solventes aplicados.

Considerando a capacidade de retenção de compostos bioativos, a utilização da mistura dos solventes Hexano:Álcool Isopropílico (1:1) apresenta menor capacidade de extração do β -caroteno, diferindo significativamente dos demais solventes. Assim, pode-se concluir que os métodos de extração por Ultrassom de Potência e Extração com Fluido Supercrítico apresentam alto rendimento e apresentam capacidade de retenção dos compostos bioativos do óleo de sementes de laranja.

REFERÊNCIAS

AGHEL, N. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Talanta**, v. 62, p. 407-11, 2004.

AJEWOLE, K., ADEYEYE, A. Characterization of Nigerian citrus. **Food Chemistry**, v. 47, p. 77-78, 1993.

ALBUQUERQUE, L. C. **Extração supercrítica de matrizes vegetais oleaginosas: rendimento global, cinética de extração, composição química e atividade antioxidante**. 2008. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2008.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGUS, S. et al. **International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide**. Oxford: Pergamon Press, 1976.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18. ed. Maryland, 2005.

ARANHA, C. P. M. **Caracterização de óleos extraídos de sementes de laranjas (*Citrus sinensis*) como aproveitamento de resíduos agroindustriais**. 2011. 76f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". São José do Rio Preto - SP, 2011.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed., Viçosa, ed. UFV cap. 17, p. 374-375, 1999.

ARCHED, D. G. Thermodynamic properties of synthetic sapphire (a-A1203) standard reference material 720 and the effect of temperature-scale differences on

thermodynamic properties. **Journal of Physics Chemistry Reference Data**, v. 22, n. 6, p. 1441-1453, 1993.

ASTM E1269. **Standart test method for determining specific heat capacity by differentail scanning calorimetry**. West Conshohocken: ASTM International. 2005.

BARBOSA, D. A. **Avaliação fitoquímica e farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**. 2008. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.

BARCIA, M. T. et al. Effect of drying methods on the phenolic content and antioxidant capacity of Brazilian winemaking byproducts and their stability over storage. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. Early Online, 1-9, 2015.

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. 233f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BERGAMASCHI, K. B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.

BERNA, A. et al. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel; effect of the height of the bed. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 18, p. 227-237, 2000.

BERNARDO-GIL, M. G. et al. Produção de extratos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, v. 73, p. 14-21, 2002.

BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. Canadá, v. 37, n. 8, p. 912-917, 1959.

BOUTIN, O; BADENS, E. Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO₂: experimental design and products quality. **Journal of Food Engineering**. v. 92, p. 396-402, 2009.

BRAND-WILIAMS, W et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. **Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Consulta Pública nº 85 de 13 de Setembro de 2004. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8994-1-0%5D.pdf>> Acesso em Agosto de 2013.

BRUNNER, G. **Gas extraction**: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, v.4, 1994.

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

CABRAL, V. F. et al. Correlation of dye solubility in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 40, p. 163-169, 2007.

CAMARGO, L. A. et al. Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de *Aspergillus* SP. **Alimento e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 153-156, 2005.

CASTELO-BRANCO, V. N; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 173-187, 2011.

CERUTTI, M. L. M. N. et al. Solvent extraction of vegetable oils: Numerical and experimental study, **Food and Bioproducts Processing**, v. 9, p. 199–204, 2012.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura Mensal**. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_03_22_15_46_01_conjuntura_laranja_fevereiro_2017.pdf. Acessado em 20 de setembro de 2017.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais**: benefícios para a saúde. Viçosa: Varela, 2008.

DA PORTO, C. et al. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1076-1080, 2013.

DÍAZ-REINOSO, B. et al. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2441-2469, 2006.

DIEHL, L. C. P. **Extração e fracionamento de compostos com princípios ativos de própolis usando o dióxido de carbono supercrítico**. 2008, 248f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2008.

DOBARGANES-NODAR, M. et al. Characterisation and Process Development of Supercritical Fluid Extraction of Soybean Oil. **Food Science and Technology International**. v. 8, p. 337-342, 2002.

DOGENSKI, M. **Extração do óleo essencial e óleo-resina das folhas de *Corymbia citriodora* utilizando CO₂ em condições sub e supercríticas**. 2013, 144f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2013.

EIKANI, M. H. et al. Extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using superheated hexane. **Food and Bioproducts Processing**. v. 90, n. 1, p. 32-36, 2012.

EXAME. **Produção de suco de laranja**. Disponível em:

<https://exame.abril.com.br/economia/producao-de-suco-de-laranja-deve-crescer-mais-de-70-em-201718/>. Acessado em 20 de setembro de 2017.

FAGUNDES, R. L. M; COSTA, Y. R. Uso de alimentos funcionais na alimentação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 108, p. 42-48, 2003.

FERNANDES, R. E. et al. **Aproveitamento da casca da laranja através da extração de óleos essenciais**. XXI Congresso de Iniciação científica de tecnológica em Engenharia, Santa Maria, 2006.

FERREIRA, S. R. S. et al. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 235-245, 1999.

FERREIRA, S. R. S; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 54, p. 263-9, 2002.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração de óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

GALVÃO, E. L. **Extração supercrítica do óleo de linhaça: construção do extrator, estudo de parâmetros de processo, avaliação química e antioxidante do produto**. 2009. 142f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

GAÑÁN, N; BRIGNOLE, E. A. Fractionation of essential oils with biocidal activity using supercritical CO₂ – Experiments and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, p. 58-67, 2011.

GARMUS, T. T. et al. 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. **Journal of Supercritical Fluids**, v.86, p. 4-14, 2014.

GOMES, F. S. Carotenoides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 537-548, 2007.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**. v. 117, p. 492-498, 2013.

HOSSAIN, M. B. et al. Ultrasonic extraction of steroidal alkaloids from potato peel waste. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 1470-1476, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores conjunturais em 2017**. Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201709.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201709.pdf). Acessado em 20 de setembro de 2017.

JORGE, N.; SILVA, A. C.; ARANHA, C. P. M. Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 951-958, 2016.

KITZBERGER, C. S. G. **Obtenção de extrato de cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a alta pressão**. 2005, 127f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2005.

KOBORI, C. N., JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008-10014, 2005.

LAROZE, L. E. et al. Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents. **European Food Research and Technology**. v. 231, p. 669-677, 2010.

LI, H. et al. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**. v. 37, p. 731-738, 2004.

LIU, G. et al. Supercritical CO₂ extraction optimization of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using response surface methodology. **Food Science and Technology**. v. 42, p. 1491-1495, 2009.

LIU, Y. et al. Response surface optimization of ultrasound-assited enzymatic extraction polyssaharides from *Lycium barbarum*. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 278-284, 2014.

LUZIA DMM; BERTANHA BJ; JORGE N. Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**; v. 69; n. 2. p. 175-80, 2010.

MA, Y. et al. 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.

MALACRIDA, C. R. **Caracterização de óleos extraídos de sementes de frutas: composição de ácidos graxos, tocoferóis e carotenóides**. 2009. 105f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". São José do Rio Preto - SP, 2009.

MALACRIDA, CR, JORGE, N. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis f. Flavicarpa*): physical and chemical characteristics **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.55 n.1: pp. 127-134, 2012.

MANN, T. **Chemical aspects of biosynthesis**. New York: Oxford University Press Inc. 1994, 92 p.

MARSAL, A. et al. Supercritical CO₂ extraction as a clean degreasing process in the leather industry. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 16, p. 217-223, 2000.

MARTÍNEZ, J. et al. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Industrial Engineering and Chemistry Research**, v. 42, n. 5, p. 1057-1063, 2003.

MASON, T. J. Power ultrasound in food processing. In: POVEY, M. J. W.; MASON, T. J. eds. **Ultrasound in food processing**. Londres: Springer, 1998. 105-127 p. M

MASON, T. J. Large scale sonochemical processing: aspiration and actuality. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 7, n. 4, p. 145-149, 2000.

MATTANA, R. S. et al. Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba (*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.1, p.150-156, 2015.

MAUL, A. A. Fluidos Supercríticos, situação atual e futuro da extração supercrítica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. n. 11, p. 42-46, 1999.

MESOMO, M. C. **Obtenção de extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) usando CO₂ supercrítico e propano comprimido: Cinética de extração e atividade biológica**. 2013, 74f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013.

MEZZOMO, N. et al. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Process yield and extract composition. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5622-5632, 2010.

MOURA, P. M. et al. Supercritical fluid extraction from guava (*Psidium guajava*) leaves: Global yield, composition and kinetic data. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 62, p. 116-122, 2012.

NASCIMENTO E SANTOS, D. **Extração com dióxido de carbono supercrítico e estudo da composição dos extratos de sementes de Pitanga (*Eugenia uniflora***

L.). 2012, 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2012.

OLIVEIRA, D. A. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinífera*) das variedades merlot e syrah**. 2010. 211f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

OLIVEIRA, P. M. A. **Óleo de café verde obtido por extração supercrítica, extração com fluido pressurizado e comparação de sua composição com o óleo de café extraído pelos pequenos produtores do Estado de São Paulo: análise da concentração de compostos bioativos**. 2013. 102f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2013.

PAPAMICHAIL, I. et al. Supercritical fluid extraction of celery seed oil. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 18, p. 213–226, 2000.

PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food Bioprocess Technol**. V. 3, p. 340–372, 2010.

PEREIRA, C. S. S. **Avaliação de Diferentes Tecnologias na Extração do Óleo do Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L)**. 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Seropédica, 2009.

PERTUZATTI, P. B. **Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas, 2009.

PERTUZATTI, P. B. et al. Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian Blueberries. **Food Chemistry**, v. 164, p. 81–88, 2014.

PINJARI, D. V.; PANDIT, A. B. Cavitation milling of natural cellulose to nanofibrils. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 845-852, 2010.

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

QU, W. et al. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. **Journal of Food Engineering**. v. 99, n. 1, p. 16-23, 2010.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REDA, S. et al. Caracterização dos óleos das sementes de limão rosa (*Citrus limonia* Osbeck) e limão siciliano (*Citrus limon*), um resíduo agroindustrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 672-676, 2005.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 10, p. 1-37, 1997.

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

RIOS, A. O.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Protection by carotenoids against free radicals generated during the treatment of cancer with cisplatin. **Alimentos e Nutrição**, v.20, n.2, p. 343-350, 2009.

RIZVI, S. S. H. et al. Supercritical fluid extraction: operating principles and food applications. **Food Technology**, v. 40, n.7, p. 57-64, 1986.

RODRIGUES, B. S. **Resíduo da agroindústria como fonte de fibras para a elaboração de pães integrais**. 2010. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2010.

RODRIGUES, C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

RODRIGUES, S. et al. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 95-100, 2008.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009. 358 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington DC: ILSI Press, 2001.

ROSA, D. P. **Resíduo de laranja – Estudo da cinética de secagem das sementes e influência da temperatura na qualidade do óleo**. 2013. 127f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". São José do Rio Preto, 2013.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS**. Fortaleza: EMBRAPA (Comunicado Técnico n. 128), 4p. 2007.

SAIPARI, E. et al. Effect of seed drying on germination behavior in citrus. **Scientia Horticulturae**, v. 73, n.2, p. 185-190, 1997.

SCALIA, S. et al. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 21, p. 549-558, 1999.

SERRA, A. T. et al. Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 55, p. 184-191, 2010.

SHEKIN, D. **Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures**. 3. ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2004. 79 p.

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less)**. 2004. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SILVA, A. L. **Análise química de espécies de valerianas brasileiras**. 2009. 205f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SINGH, K. K. et al. Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 79, n. 2, p. 165 – 170, 2002.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

SONICS®. Sonics & Materials, INC, 2016. Disponível em: <https://www.sonics.com/liquid-processing/products/vibra-cell-processors/vcx-1500-hv/>. Acessado em 10 de setembro de 2016.

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

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

STATSOFT, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica. Ciências Biológica e da Saúde**. v.14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TAKEUCHI, T. M. **Extração supercritica de macela, cravo-da-índia e vetiver: aspectos tecnológicos e econômicos**. 2009. 417f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TAO, Y. et al. Experimental and modelling studies of ultrasound-assited release of phenolics from oak into model wine. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 1839-1848, 2014.

TAVARES, J. A. **Projeto, construção, testes e operação de um extrator de óleos vegetais**. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, 2007.

TAYLOR, L. T. **Supercritical Fluid Extraction**. John Wiley & Sons Inc., Canada, p. 181, 1996.

TOMA, M. et al. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p. 137-142, 2007.

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

VAUGHAN, J. G.; GEISSLER, C. A. **The New Oxford Book of Food Plants**, p 94-99. Oxford, 2008.

VILLAÑO, D. et al. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. **Food Chemistry**, v. 95, p. 394–404, 2006.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Essex: Longman Group, 1993, p.41-61.

WATERS CORPORATION, 2015. Disponível em: <http://www.waters.com/waters/pt_BR/SFE-extractionequipment/nav.htm?locale=pt_BR&cid=134614431>. Acesso em 21 de Fevereiro de 2015.

XU, Y. et al. Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 72-81, 2014.

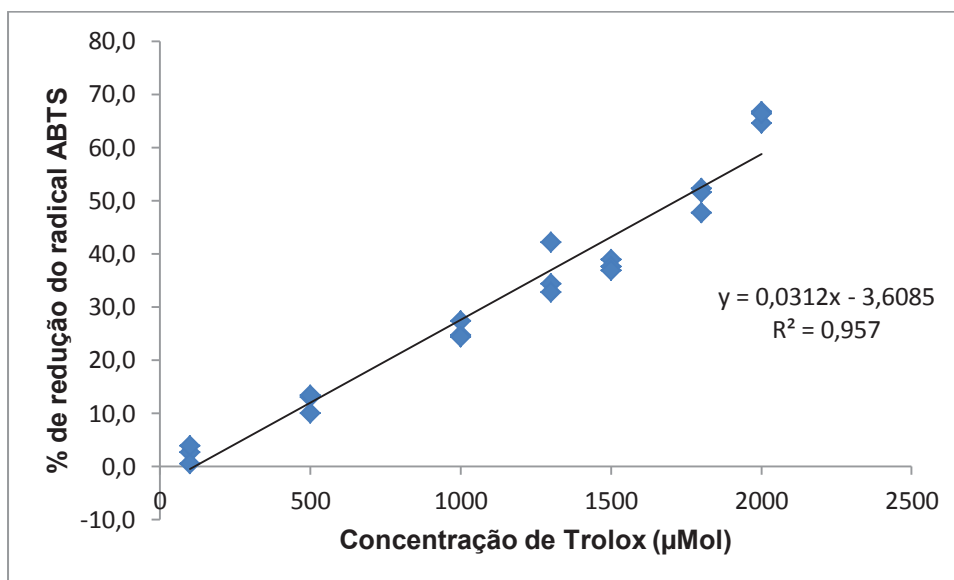
YU, L.; GIURGIUTIU, V. Multi-mode damage detection methods with piezoelectric wafer active sensors. **Journal of Intelligent Material Systems and Structures**, v. 20, p. 1329-1341, 2009.

ZHANG, Z. S. et al. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**. v. 62, p. 192-198, 2008.

ZHANG, Q. A. et al. Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. **Food Chemistry**. v. 116, n. 2, p. 513-518, 2009.

APÊNDICES

Apêndice A - Curva padrão de calibração de ABTS usando Trolox



Apêndice B - Curva padrão de calibração de DPPH usando Trolox

