

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA - NÍVEL DE MESTRADO

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*)
EMPREGANDO PROPANO SUBCRÍTICO: CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO E
FARELO**

KÁTIA ANDRESSA SANTOS

**TOLEDO – PR
Fevereiro de 2014**

KÁTIA ANDRESSA SANTOS

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*)
EMPREGANDO PROPANO SUBCRÍTICO: CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO E
FARELO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração em **Desenvolvimento de Processos**.

Orientador: Prof. Dr. Edson Antônio da Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Camila da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Palú

**TOLEDO – PR
Fevereiro de 2014**

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.
Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

S237e	Santos, Kátia Andressa Extração do óleo de sementes de Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>) empregando propano subcrítico : caracterização do óleo e farelo / Kátia Andressa Santos. -- Toledo, PR : [s. n.], 2014. xiv; 104 f. : il. (algumas color.), figs., tabs. Orientador: Prof. Dr. Edson Antonio da Silva Coorientadora: Profa. Dra. Camila da Silva Coorientador: Prof. Dr. Fernando Palú Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências Exatas. 1. Desenvolvimento de processo 2. Extração do óleo – Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>) 3. Sementes de crambe – Extração de óleo 4. Extração por fluído subcrítico - Propano 5. Farelo desengordurado – Sementes de Crambe – Atividade antioxidante – Compostos fenólicos 6. Estabilidade oxidativa 7. Modelagem matemática – Cinética de extração I. Silva, Edson Antonio da, Orient. II. Silva, Camila, Orient. III. Palú, Fernando, Orient. IV. T CDD 20. ed. 660.284248
-------	---

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Kátia Andressa Santos a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 21 de fevereiro de 2014

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Edson Antonio da Silva
Orientador



Profª. Drª. Camila da Silva
Coorientadora



Prof. Dr. Fernando Palú
Coorientador



Prof. Dr. Carlos Eduardo Borba
Membro



Prof. Dr. Ricardo Schneider
Membro

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS pela força, coragem e bênçãos em mais esta etapa de minha vida.

À minha mãe, Iracema, que me ensinou a sempre batalhar para conquistar meus sonhos e nunca desistir diante dos obstáculos. Ao meu pai, Aníbal (*in memoriam*), que, infelizmente, não pode estar presente no final deste trabalho, mas deixou o exemplo de fé e perseverança que levo para toda minha vida.

Ao meu namorado Nailky, pelo apoio, ajuda, compreensão, incentivo, paciência e amor.

Aos meus irmãos Simone e Alex, que sempre me incentivaram. À minha sobrinha Marina pelos momentos de alegria.

Ao Prof. Dr. Edson Antônio da Silva, pela orientação e dedicação durante esses anos de pesquisa. Agradeço imensamente por contribuir para meu crescimento profissional.

À Profa. Dra. Camila da Silva, pela ajuda, dedicação e confiança depositada na realização deste trabalho. Muito obrigada pelo exemplo de determinação.

À Universidade Estadual de Maringá, principalmente ao Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho, pelo suporte oferecido na execução da parte experimental deste trabalho.

Aos Profs. Drs. Reinaldo Bariccatti e Fernando Palú pelo fornecimento do material para a realização deste trabalho. Agradeço também pelos ensinamentos durante a carreira acadêmica.

Ao Prof. Dr. Ricardo Schneider pela ajuda com as análises em DSC.

À Capes pelo suporte financeiro.

Aos amigos e colegas pelo apoio em todos os momentos de dificuldades e expectativas durante esta etapa.

Enfim, agradeço a todos os professores, funcionários, colegas e familiares que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
NOMENCLATURA.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivos Específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>).....	4
3.2 Óleo de crambe.....	8
3.2.1 Mecanismo da deterioração de óleos	10
3.2.2 Avaliação da estabilidade oxidativa - DSC	12
3.2.3 Atuação dos antioxidantes.....	14
3.3 Farelo do crambe	17
3.4 Métodos de extração do óleo	19
3.4.1 Método convencional.....	19
3.4.2 Extração com fluido no estado supercrítico ou subcrítico.....	20
3.4.2.1 Aplicação de propano subcrítico na extração de óleo.....	26
3.5 Modelagem matemática	27
3.5.1 Modelo de Sovová (1994).....	30
3.6 Considerações Parciais.....	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Materiais.....	36
4.1.1 Sementes de crambe (<i>Crambe abyssinica</i>).....	36
4.1.2 Reagentes	36
4.2 Preparação das sementes para a extração do óleo	37
4.3 Extração do óleo	37
4.3.1 Extração convencional - Soxhlet.....	37
4.3.2 Extração com propano subcrítico	38
4.3.2.1 Solubilidade do óleo de crambe no propano subcrítico.....	40

4.3.2.2	Caracterização do leite de partículas	40
4.3.2.2.1	Densidade do leite.....	40
4.3.2.2.2	Porosidade do leite.....	41
4.3.2.2.3	Densidade real das sementes.....	41
4.4	Modelagem matemática da cinética de extração com propano subcrítico	42
4.5	Caracterização do óleo de crambe	43
4.5.1	Ácidos graxos totais.....	43
4.5.2	Compostos livres de glicerol	43
4.5.3	Tocoferóis (vitamina E)	44
4.6	Análises térmicas do óleo de crambe.....	46
4.6.1	Análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC)	46
4.6.2	Determinação do ponto de fusão.....	47
4.7	Composição química das sementes e farelo parcialmente desengordurado	47
4.7.1	Determinação do teor de umidade.....	48
4.7.2	Teor de cinzas	48
4.7.3	Proteína bruta.....	48
4.7.4	Cor	49
4.8	Determinação de compostos fenólicos totais e flavonóides	49
4.8.1	Compostos fenólicos totais.....	49
4.8.2	Flavonóides totais.....	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
5.1	Extração do óleo de crambe	51
5.1.1	Método convencional.....	51
5.1.2	Extração com propano subcrítico	52
5.1.2.1	Análise estatística	54
5.1.3	Modelagem matemática da cinética de extração.....	58
5.2	Análise dos ácidos graxos totais	61
5.3	Compostos livres de glicerol: AGL e fitosteróis	64
5.3.1	Análise dos tocoferóis (vitamina E).....	67
5.4	Análise térmica do óleo de crambe	69
5.4.1	Estabilidade oxidativa	69
5.4.2	Determinação do ponto de fusão do óleo	74

5.5	Caracterização das sementes de crambe e do farelo parcialmente desengordurado	77
5.6	Determinação de compostos fenólicos.....	79
5.6.1	Compostos fenólicos totais.....	79
5.6.2	Flavonóides totais.....	81
6	CONCLUSÕES	83
7	ATIVIDADES FUTURAS	85
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – (a) Plantação de crambe (FALASCA & FLORES, 2006); (b) Galhos de crambe com frutos e flores (VEDANA, 2007)	5
Figura 3.2 – (a) Fruto de crambe (b) Fruto de crambe maduro (VEDANA, 2009).	5
Figura 3.3 – Mecanismo de oxidação lipídica. Adaptado de BERDAHL et al. (2010).	10
Figura 3.4 – Termograma ideal da oxidação lipídica isotérmica. Adaptado de SALDAÑA & MARÍNEZ-MONTEAGUDO (2013).	13
Figura 3.5 – Estabilização do radical fenólico inerte do antioxidante por ressonância (WANASUNDARA & SHAHIDI, 2005).	15
Figura 3.6 – Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis (Adaptado de KAMAL-ELDIN, 2005).	16
Figura 3.7 – Diagrama de fases para substância pura (Adaptado de SMITH, VAN NESS & ABBOTT, 2005).	21
Figura 4.1 – Representação do módulo experimental de extração com propano subcrítico (Adaptado de SILVA et al., 2014).	39
Figura 4.2 – Curva de calibração do α -tocoferol.	45
Figura 4.3 – Curva de calibração do γ -tocoferol.	45
Figura 4.4 – Curva de calibração do δ -tocoferol.	46
Figura 4.5 – Curva de calibração do ácido gálico.	50
Figura 5.1 – Curvas cinéticas experimentais das extrações do óleo de crambe com propano subcrítico.	54
Figura 5.2 – Gráfico de Pareto de efeitos para as variáveis temperatura e pressão na extração do óleo de crambe utilizando propano subcrítico.	56
Figura 5.3 – Superfície de resposta.	57
Figura 5.4 – Cinéticas experimentais de extração com ajuste do modelo de Sovová.	60
Figura 5.5 – Distribuição dos principais ácidos graxos insaturados no óleo de crambe obtidos de acordo com a condição empregada na extração.	62
Figura 5.6 – Distribuição dos principais ácidos graxos saturados no óleo de crambe obtidos de acordo com a condição empregada na extração.	62
Figura 5.7 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crambe extraído com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar submetido ao fluxo de O ₂	70
Figura 5.8 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crambe extraído de forma convencional com hexano submetido ao fluxo de O ₂	70
Figura 5.9 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crambe extraído de forma convencional com diclorometano submetido ao fluxo de O ₂	71
Figura 5.10 – Curvas de estabilidade oxidativa de amostras de óleo extraído com hexano submetidas a fluxos de nitrogênio (A) e oxigênio (B) a 140 °C.	72
Figura 5.11 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar.	75

Figura 5.12 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído hexano.	75
Figura 5.13 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído com diclorometano.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Descrição das principais características agronômicas do crambe cultivar FMS Brilhante.	7
Tabela 3.2 – Grupos substituintes dos anel cromanol (Adaptado de KAMAL-ELDIN, 2005).	16
Tabela 3.3 – Propriedades físicas dos diferentes estados do fluido (BRUNNER, 2005).	22
Tabela 3.4 – Propriedades críticas de alguns solventes que podem ser empregados na extração supercrítica (DIEHL, 2008)	24
Tabela 4.1 – Níveis de temperatura e pressão utilizados nos ensaios de extração do óleo de crambe.	39
Tabela 4.2 – Condições utilizadas para determinação da densidade real por picnometria de gás hélio.	42
Tabela 5.1 – Rendimento das extrações do óleo de crambe com os solventes orgânicos (hexano e diclorometano).	51
Tabela 5.2 – Condições experimentais das extrações com propano subcrítico e rendimentos obtidos ao final de 80 minutos.	53
Tabela 5.3 – Tabela de efeitos para as variáveis temperatura e pressão na extração do óleo de crambe utilizando propano subcrítico.	56
Tabela 5.4 – Estatística “F”.	57
Tabela 5.5 – Parâmetros ajustados do modelo de Sovová para as extrações com propano subcrítico.	59
Tabela 5.6 – Valores dos indicadores estatísticos.	60
Tabela 5.7 – Composição em ácidos graxos totais (%) encontrada no óleo de crambe extraído sob diferentes condições experimentais (conforme Tabela 5.2).	63
Tabela 5.8 – Identificação dos compostos não ligados ao glicerol presentes no óleo de crambe.	64
Tabela 5.9 – Quantificação dos ácidos graxos livres (AGL) presentes no óleo de crambe.	65
Tabela 5.10 – Quantificação de fitosteróis presentes no óleo de crambe (mg de FIT 100 g ⁻¹ de óleo).	66
Tabela 5.11 – Quantificação dos tocoferóis (α, γ e δ) presentes no óleo de crambe (mg de TOC 100 g ⁻¹ de óleo).	67
Tabela 5.12 – Tempos de indução oxidativa do óleo de crambe.	72
Tabela 5.13 – Características da matéria-prima e farelo parcialmente desengordurado.	78
Tabela 5.14 – Quantificação dos teores de fenólicos totais nas sementes e no farelo de crambe.	80
Tabela 5.15 – Quantificação dos teores de flavonóides totais nas sementes e no farelo de crambe.	82

NOMENCLATURA

AGL	Ácidos graxos livres	-
DMA	Desvio médio absoluto	-
D_{AX}	Coeficiente de dispersão na fase sólida	$L^2 T^{-1}$
D_{AY}	Coeficiente de dispersão na fase fluida	$L^2 T^{-1}$
EAG	Equivalente em ácido gálico	-
F_{calc}	F calculado (teste “F”)	-
FIT	Fitosterol	-
F_{tab}	F tabelado (teste “F”)	-
H	Altura do extrator	L
h	Coordenada na direção axial do leito	L
$J(X,Y)$	Taxa de transferência de massa	$M L^{-3} T^{-1}$
K	Massa de soluto depositado no interior do sólido	M
$k_F a$	Coeficiente de transferência de massa no filme externo	T^{-1}
$k_S a$	Coeficiente de transferência de massa no sólido	T^{-1}
$m(t)$	Massa de óleo em função do tempo	M
$\dot{m}_F$	Vazão mássica de solvente	$M T^{-1}$
$m_{óleo}$	Massa total de óleo obtido apenas na parte inicial (linear) da curva de extração	M
m_S	Massa de inerte, sendo esta a massa alimentada no extrator descontada a quantidade de óleo extraída	M
$m_{solvente}$	Massa de solvente gasto apenas na parte inicial (linear) da curva	M
O	Massa de soluto no sólido	M
P	Massa de soluto de fácil extração na superfície do sólido	M
T	Temperatura	Θ
t	Tempo	T
t_{CER}	Tempo do período <i>CER</i>	T
t_{FER}	Tempo do período <i>FER</i>	T

TOC	Tocoferol	-
u	Velocidade superficial do fluido	$L T^{-1}$
V_{leito}	Volume total leito de extração	L^3
W	Parâmetro adimensional relacionado à transferência de massa no interior do sólido	-
X	Razão entre massa de soluto e massa de sólido inerte	$M M^{-1}$
X_0	Razão entre a massa inicial de soluto e a massa de sólido inerte	$M M^{-1}$
X_K	Razão entre a massa de soluto depositado no interior do sólido e a massa de soluto disponível no leito	$M M^{-1}$
X_p	Razão entre a massa de soluto de fácil extração na superfície do sólido e a massa de soluto disponível no leito	$M M^{-1}$
Y	Razão entre massa de soluto e massa de solvente	$M M^{-1}$
Y_S	Solubilidade do soluto no solvente	$M M^{-1}$
Z	Parâmetro adimensional relacionado à transferência de massa na superfície do sólido	-
ρ_{leito}	Densidade do leito	$M L^{-3}$
ρ_F	Densidade do solvente	$M L^{-3}$
ρ_S	Densidade do sólido	$M L^{-3}$
ε	Porosidade do leito	-

EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*) EMPREGANDO PROPANO SUBCRÍTICO: CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO E FARELO

AUTORA: KÁTIA ANDRESSA SANTOS

ORIENTADOR: PROF. DR. EDSON ANTÔNIO DA SILVA

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química;
Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Rua da Faculdade, 645; CEP: 85903-
000 - Toledo - PR, Brasil, defendida em 21 de fevereiro de 2014. 104 p.

RESUMO

O crambe (*Crambe abyssinica*) é uma oleaginosa com elevado teor de óleo rico em ácido erúico, um ácido graxo de grande aplicação industrial. Na extração de óleos vegetais, tradicionalmente são empregados métodos como a prensagem e/ou a utilização de solventes orgânicos, que são conhecidos por apresentarem diversos inconvenientes. Dentro deste contexto, o presente trabalho visa avaliar a aplicação do propano em condições subcríticas na obtenção de óleo de crambe, comparando os rendimentos e características do óleo obtido por esta técnica ao óleo extraído pelo método convencional com os solventes orgânicos hexano e diclorometano. Um planejamento experimental 2^2 foi empregado para avaliar os efeitos da temperatura e pressão no rendimento da extração com propano subcrítico, sendo utilizadas nos experimentos temperaturas entre 40 e 80 °C e pressões entre 80 e 160 bar, com vazão fixa de solvente de $1,6 \times 10^{-3} \text{ kg min}^{-1}$ e tempo total de extração de 80 minutos. Também foi realizada a modelagem matemática da cinética de extração subcrítica empregando o modelo de Sovová. O óleo de crambe foi caracterizado quanto ao perfil de ácidos graxos totais, compostos livres de glicerol e teores de tocoferóis. Ainda, análises calorimétricas foram realizadas para determinar a estabilidade oxidativa do óleo e seu ponto de fusão. Nas sementes e farelos foram determinados sua composição centesimal e teores de compostos fenólicos. Os resultados comprovaram o elevado teor lipídico das sementes de crambe, sendo obtidos rendimentos de 51 e 48% nas

extrações com diclorometano e hexano, respectivamente. Na extração com propano subcrítico, a temperatura foi a única variável que apresentou efeito sobre a resposta, sendo o maior rendimento (32,8%) obtido na condição de 80 °C e 160 bar. As condições experimentais não revelaram diferenças significativas quanto ao perfil de ácidos graxos totais, ao nível de significância de 5%, e estes são constituídos majoritariamente por ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido erúico (56,72 a 59,38%). Na fração não ligada ao glicerol, os ácidos graxos livres apresentaram teores abaixo de 2% e, dentre os fitosteróis, além do β -sitosterol e campesterol, foi possível identificar e quantificar o brassicasterol, característico da família à qual o crambe pertence. Quanto aos tocoferóis, o óleo de crambe extraído com propano subcrítico apresentou teores elevados destes compostos, principalmente de γ -tocoferol, o que incidiu diretamente na sua estabilidade oxidativa. O farelo, resíduo da extração, além de potencial proteico revelou ser fonte de compostos antioxidantes, como os fenólicos. Em relação à modelagem matemática, o modelo de Sovová representou satisfatoriamente os dados experimentais em todas as condições empregadas.

Palavras-chave: *Crambe abyssinica*, óleo, extração com propano subcrítico, farelo.

EXTRACTION OF CRAMBE (*crambe abyssinica*) SEED OIL USING PROPANE SUBCRITICAL: CHARACTERIZATION OF OIL AND BRAN

AUTHOR: KATIA ANDRESSA SANTOS

SUPERVISOR: PROF. DR. EDSON ANTONIO DA SILVA

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; Western Paraná State University; Rua da Faculdade, 645; CEP: 85903-000 - Toledo - PR, Brazil, presented on February, 21th 2014. 104 p.

ABSTRACT

Crambe (*Crambe abyssinica*) is an oilseed with high content of oil rich in erucic acid, a fatty acid with industrial application. In the extraction of vegetable oils are traditionally employed methods such as pressing and/or organic solvents, which are known to have several inconvenient. Within this context, this work aims to evaluate the use of propane in subcritical conditions in obtaining crambe oil, comparing the yields and characteristics of the oil obtained by this technique to oil produced by the conventional method with organic solvents hexane and dichloromethane. A 2² factorial design was employed to evaluate the effects of temperature and pressure on the yield of extraction with subcritical propane being used in experiments at temperatures between 40 and 80 °C and pressures between 80 and 160 bar, with a fixed solvent flow rate of 1.6 x10⁻³ kg min⁻¹ and the total extraction time of 80 minutes. Mathematical modeling of the kinetics of subcritical extraction was also performed using the model of Sovová. Crambe oil was characterized as the total fatty acids, free glycerol compounds and levels of tocopherols profile. Also, calorimetric analyzes were performed to determine the oxidative stability of the oil and its melting point. In seeds and bran were determined their chemical composition and contents of phenolic compounds. The results confirmed the high fat seeds of crambe, and obtained yields of 51 and 48% in extractions with dichloromethane and hexane, respectively. In subcritical propane extraction, temperature was the only variable that had an effect on the response, with the highest yield (32.8%) obtained in the condition of 80 °C and

160 bar. The different experimental conditions revealed no significant differences in total, at a significance level of 5% fatty acid profile, and these consist mainly of monounsaturated fatty acids, such as erucic acid (56.72 to 59.38%). In the free fraction glycerol, free fatty acids content below 2% and among the phytosterols, β -sitosterol beyond and campesterol was possible to identify and quantify the brassicasterol, characteristic of the family to which belongs the crambe. Regarding tocopherols, crambe oil extracted with subcritical propane showed high levels of these compounds, especially γ -tocopherol, which directly focused on the oxidative stability. The bran extraction residue, was found to be a source of protein and potential antioxidants, such as phenolic. As for the mathematical modeling, the model Sovová satisfactorily represented the experimental data in all conditions employed.

Keywords: *Crambe abyssinica*, oil, extraction using subcritical propane, bran.

1 INTRODUÇÃO

O crambe (*Crambe abyssinica*) é uma oleaginosa da família Brassicaceae, próxima à canola e à mostarda (DESAI, 2004; LAZZERI *et al.*, 1994). Suas sementes apresentam elevado teor de óleo, em média 38% (NO, 2011; CARLSSON, 2009). O óleo de crambe, principal produto da oleaginosa, é rico em ácido erúcico (50-60%), um ácido graxo monoinsaturado de grande aplicação na indústria farmacêutica, cosmética, de lubrificantes, de plásticos, entre outras. As sementes são ricas em proteínas (25-35%), sendo o farelo utilizado na alimentação de ruminantes.

Embora ainda pouco conhecida no Brasil, se destaca como uma cultura promissora, principalmente, como matéria-prima para a produção de biodiesel. Além de bom potencial produtivo, o crambe é tolerante à seca e a geadas e tem curto ciclo de cultivo (FALASCA *et al.*, 2010). Também, o seu cultivo é totalmente mecanizável sendo possível empregar os mesmo equipamentos já utilizados para as culturas tradicionais (PITOL *et al.*, 2010).

Os óleos vegetais não comestíveis são os mais adequados para a produção sustentável do biodiesel, tendo o crambe como uma fonte importante de óleo, não somente para a produção de biodiesel, mas também como lubrificante, em substituição aos óleos minerais provindos do petróleo (CARLSSON, 2009; SHASHIDHARA & JAYARAM, 2010).

Na obtenção do óleo de oleaginosas, tradicionalmente emprega-se a extração por prensagem seguida da extração com solvente orgânico, usualmente o hexano. Entretanto, o uso de solventes orgânicos apresenta vários inconvenientes tanto relacionados à qualidade dos produtos obtidos quanto à segurança e impacto ambiental. Além disso, são necessárias etapas posteriores para purificação do óleo (GARCÍA-RISCO *et al.*, 2011).

Assim, a extração com fluidos pressurizados torna-se uma alternativa para substituir os métodos convencionais. A tecnologia se baseia no uso das propriedades do fluido quando este se encontra no estado subcrítico, como elevada densidade, grande molhabilidade e poder de penetração na matriz sólida. Trata-se de uma tecnologia limpa, pois, ao final da extração, o solvente é

totalmente removido do soluto por uma simples despressurização do sistema e pode ser recuperado.

Embora o dióxido de carbono seja o fluido mais empregado neste tipo de extração, o propano subcrítico apresenta elevadas taxas de extração quando empregado na obtenção de óleo vegetal, além de se trabalhar com pressões mais baixas, o que se torna uma vantagem para as indústrias de extração de óleos, sendo essa a principal limitação na aplicação da tecnologia. No entanto, as informações sobre o uso deste solvente em extrações ainda são escassas, o que dificulta a sua implantação.

Tendo em vista o atual interesse de aplicação do crambe na matriz energética do país e as vantagens da tecnologia subcrítica em relação às convencionalmente aplicadas, o presente trabalho visa estudar a extração do óleo desta cultura empregando o propano subcrítico de forma a avaliar as variáveis temperatura e pressão no rendimento, bem como a qualidade do óleo e farelo obtidos.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é avaliar o processo de extração do óleo de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*), cultivar FMS Brilhante, utilizando propano em condições subcríticas como solvente e caracterizar o óleo e farelo obtidos.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar os rendimentos das extrações do óleo de crambe empregando propano em condições subcríticas em comparação aos obtidos pelo método convencional com os solventes orgânicos hexano e diclorometano;
- Obter as curvas cinéticas de extração do óleo de crambe com propano subcrítico, avaliando os efeitos da temperatura e pressão no rendimento total;
- Modelar as cinéticas de extração do óleo com propano subcrítico;
- Caracterizar o óleo de crambe, obtido nas diferentes condições experimentais, quanto ao perfil de ácidos graxos totais, compostos livres de glicerol (ácidos graxos livres e fitosteróis) e teor dos antioxidantes α , γ e δ -tocoferol;
- Analisar a estabilidade oxidativa e ponto de fusão do óleo pelo método DSC;
- Avaliar a quantidade proteica nas sementes e farelo bem como a dos compostos fenólicos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Crambe (*Crambe abyssinica*)

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) é uma oleaginosa pertencente à família Brassicaceae (Cruciferae), que compreende aproximadamente 338 gêneros e 3709 espécies (WARWICK *et al.*, 2006). A família apresenta espécies importantes economicamente, tais como: vegetais comestíveis (couve, *Brassica oleracea*); condimentos (mostarda, *Brassica juncea* e *Sinapis alba*); oleaginosas destinadas para a produção de óleo comestível e industrial (canola/colza, *Brassica napus*), entre outras.

O gênero *Crambe* é composto por cerca de 44 espécies (PRINA & MARTÍNEZ-LABORDE, 2008) divididas em três seções, de acordo com sua distribuição geográfica e características morfológicas: *Sarcocrambe* (19 espécies distribuídas da região entre a Europa Ocidental e Ásia até o leste do Himalaia); *Dendocrambe* (18 espécies na região do arquipélago Macaronésia) e *Leptocrambe* (7 espécies distribuídas a região do Mediterrâneo). Nesta última destaca-se o *Crambe abyssinica* Hochst por apresentar sementes ricas em óleo com propriedades importantes para aplicação na indústria química (ONYILAGHA *et al.*, 2003).

O crambe é uma planta herbácea anual de 1-2 m de altura (FALASCA *et al.*, 2010), ramifica-se próxima ao solo para formar galhos (trinta ou mais) (Figura 3.1-a), os quais se ramificam, formando galhos terciários (OPLINGER *et al.*, 1991). Apresenta folhas ovais e assimétricas e flores brancas ou amarelas (Figura 3.1-b) que produzem inúmeras sementes (DESAI *et al.*, 1997).

O fruto é uma cápsula (siliqua), inicialmente verde-claro, tornando-se amarelo com a maturidade (Figura 3.2-a,b). Cada fruto contém uma única semente esférica, envolvida por uma estrutura denominada pericarpo de cor verde ou marrom esverdeado (DESAI *et al.*, 1997). As sementes variam de 0,8 a 2,6 milímetros e possuem 35,6-42,8% de óleo (ATABANI *et al.*, 2013; CASTLEMAN *et al.*, 1999).



(a)



(b)

Figura 3.1 – (a) Plantação de crambe (FALASCA & FLORES, 2006); **(b)** Galhos de crambe com frutos e flores (VEDANA, 2007).



(a)



(b)

Figura 3.2 – (a) Fruto de crambe **(b)** Fruto de crambe maduro (VEDANA, 2009).

A espécie *Crambe abyssinica* é originária da região de transição entre clima temperado e quente e com precipitação moderada da Etiópia, mas foi adaptada às regiões frias e secas do Mediterrâneo (MASTEBROEK *et al.*, 1994, WEISS, 1983).

Foi cultivado pela primeira vez em 1933 pela Estação Botânica Voronez na antiga União Soviética (PAPATHANASIOU *et al.*, 1966), sendo posteriormente

testado em outras regiões da URSS, Suécia e Polônia (ZIMMERMANN, 1962). Na década 1940 foi introduzido nos Estados Unidos pela Estação Experimental de Agricultura de Connecticut que logo o identificaram como uma fonte promissora de ácido erúico (PRINCEN, 1983), mas somente em 1990, após intensivos estudos e melhoramentos genéticos, começou a ser produzido comercialmente (JOHNSON & SELL, 1994).

Atualmente, a oleaginosa vem se expandindo para outros continentes, com plantios registrados na Austrália, África do Sul, Paraguai e Brasil (PITOL *et al.*, 2010).

No Brasil, as pesquisas com o crambe iniciaram-se em 1995 pela Fundação MS, em Maracaju-MS, que trouxeram material do México com o objetivo inicial de avaliá-lo como cultura de cobertura de solos (PITOL *et al.*, 2010), entretanto as espécies já existentes para esse fim se mostravam mais atraentes e não havia demanda para a nova planta.

Devido ao bom potencial da planta na produção de grãos, a Fundação MS direcionou seus estudos para este fim, identificando-a como uma oleaginosa com potencial de cultivo para a produção de biodiesel. Em 2007 foi registrada a cultivar FMS Brilhante, com produção inicial entre 1000 e 1500 quilos por hectare (FALASCA *et al.*, 2010). Até o ano de 2010 já foram registradas produtividades de até 2300 quilos por hectare (PITOL *et al.*, 2010).

Deve-se ressaltar que a cultivar registrada no Brasil foi obtida pelo método de seleção massal da população oriunda do México, sendo verificada variabilidade fenotípica para diversas características na cultivar. Assim, melhoramentos genéticos podem ser aplicados a fim de obter características reprodutíveis além de aumento na produtividade, no teor de óleo, teor de ácido erúico, redução dos compostos antinutricionais, etc. (LARA, 2013).

Na Tabela 3.1, são apresentadas algumas características do crambe cultivar FMS Brilhante na região sul do estado de Mato Grosso do Sul (PITOL *et al.*, 2010).

Tabela 3.1 – Descrição das principais características agronômicas do crambe cultivar FMS Brilhante.

Características	Descrição
Altura média	80 cm
Aspecto da planta	Herbáceo
Tipo do Caule	Ramificado
Ciclo total	90 dias
Ciclo (início florescimento)	35 dias
Tipo de Inflorescência	Rácimo
Cor da flor	Branca
Tipo do fruto	Cápsula
Formato do grão	Redondo
Cor do grão	Marrom-claro
Tamanho do grão	2 mm
Teor de óleo (com casca)	36 a 38%
% de casca	22%
Produtividade	1000 a 1500 kg/ha

Com origem em regiões quentes e com precipitação moderada, o crambe foi inicialmente domesticado a regiões secas e frias (KNIGHTS, 2002), por isso essa planta apresenta bons resultados quando cultivada no inverno brasileiro, tanto nas regiões mais frias (sul do Brasil e sul do Mato Grosso do Sul), mas também nas regiões mais quentes do Centro Oeste (norte de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás).

Assim, o crambe é uma ótima opção para a rotação de cultura com soja, milho, trigo entre outros, sendo mais uma alternativa para a safrinha (FUNDAÇÃO MS, 2008). O cultivo do crambe pode chegar a 4 ciclos por ano, com investimento aproximado de R\$ 300,00 por hectare, chegando a ser produzido 560 kg de óleo de crambe (PLEIN *et al.*, 2010). As sementes podem ser colhidas, transportadas e armazenadas com máquinas e estruturas similares às utilizadas para as culturas da soja e do milho, necessitando somente pequenas adaptações. Assim, não há necessidade de investimentos específicos para a cultura.

A baixa densidade das sementes, em média 340 kg por metro cúbico, retrata o principal entrave no estabelecimento dessa cultura (PLEIN *et al.*, 2010), pois eleva os custos de transporte e armazenamento. No entanto, o descascamento das sementes eleva a densidade das mesmas se aproximando à da soja. Esse procedimento, segundo PITOL *et al.* (2010) não é complicado pois há diferença suficiente de densidade entre a casca e a parte interna do grão.

3.2 Óleo de crambe

O óleo é o principal produto do crambe. Os grãos inteiros contêm de 35,6-42,8% de óleo (ATABANI *et al.*, 2013; CASTLEMAN *et al.*, 1999). No Brasil a variedade FMS Brilhante apresenta em média 36% de óleo (PITOL *et al.*, 2010).

Os lipídios de fontes vegetais são constituídos em sua maior parte por ácidos graxos esterificados com glicerol, predominantemente sob a forma de triacilgliceróis (95-98%). Os ácidos graxos que esterificam com o glicerol apresentam cadeias alifáticas saturadas e insaturadas. Óleos vegetais, na maioria, são líquidos à temperatura ambiente e, portanto, predominantemente constituídos de ácidos graxos insaturados.

O óleo de crambe é constituído em sua maior parte por ácidos graxos monoinsaturados, com predominância ácido erúico (50 – 60%) (LESSMAN & BERRY, 1997; LAZZERI *et al.*, 1994; FALASCA *et al.*, 2010), seguido do ácido oleico (BONDIOLI *et al.*, 1998). Os ácidos graxos saturados somam cerca de 6% (SINGH & SINGH, 2010; BRÁS, 2011).

Ácido erúico é um ácido graxo de cadeia longa monoinsaturada com 22 carbonos de ocorrência natural na família das crucíferas (NO *et al.*, 2013). Sua fórmula molecular é $C_{22}H_{42}O_2$, notado como 22:1 ω -9 e, também conhecido como ácido cis-13-docosenóico. Sua longa cadeia carbônica confere ao óleo a capacidade de suportar altas temperaturas e de permanecer líquido a baixas temperaturas, o que o torna um óleo lubrificante de alta qualidade, pois é muito mais eficaz e biodegradável do que os óleos minerais (WANG *et al.*, 2000) e também promissor para a produção de biodiesel por apresentar alta estabilidade e baixo ponto de fusão (FUNDAÇÃO MS, 2010).

O uso de ácido erúico derivado de "matéria-prima verde", notadamente de espécies crucíferas, em diversas aplicações industriais aumentou consideravelmente nos últimos 10 anos (ZANETTI *et al.*, 2009). A aplicação primária de óleos ricos em ácido erúico é para a produção de erucamida (RCONH₂), um agente deslizante utilizado na fabricação de filmes de polietileno e polipropileno (TEMPLE-HEALD, 2004).

Estima-se que o consumo anual de agentes deslizantes derivados de ácido erúico, como a erucamida seja de 30000 toneladas, com crescimento de 3-5% ao ano (ZANETTI *et al.*, 2009). Os maiores produtores de erucamida empregam a colza (*Brassica napus*), que apresenta um percentual de aproximadamente 47% em ácido erúico. Entretanto a demanda atual de ácido erúico não consegue ser suprida somente com esta cultura. Assim, o crambe surge como uma melhor alternativa de fonte do ácido, pois apresenta de 8 a 9% a mais deste ácido graxo, com a vantagem de ser mais bem adaptado para áreas tropicais, já que os maiores produtores são dos Estados Unidos (JASPER, 2009; ZANETTI *et al.*, 2009).

Embora sua principal aplicação seja na fabricação da erucamida, o ácido erúico e/ou seus derivados também tem grande aplicação industrial. É utilizado na fabricação de lubrificantes, detergentes, cosméticos, surfactantes, produtos farmacêuticos, inibidor de corrosão, entre outras (LAZZERI *et al.*, 1994; MIKOLAJCZAK *et al.*, 1961). Também são utilizados na preparação de filmes de polietileno, álcool beênico, ácido beênico, revestimentos, nylons, materiais fotográficos e emulsificantes (TEMPLE-HEALD, 2004; LEONARD, 1994). O óleo pode ser empregado como fluido de refrigeração e de lubrificação (MULDER & MASTEBROEK, 1996).

O ácido erúico é tóxico para a saúde por causar danos cardíacos, aumento do nível de colesterol nas glândulas suprarrenais e lipidose nos tecidos cardíacos. Assim, óleo de crambe não é adequado para alimentação humana, o que é uma vantagem em relação às demais oleaginosas, pois esta cultura fica destinada apenas para fins industriais (PITOL *et al.*, 2010; KNIGHTS, 2002).

3.2.1 Mecanismo da deterioração de óleos

A principal reação de deterioração dos óleos vegetais (constituídos majoritariamente por ácidos graxos insaturados) é conhecida como autooxidação ou peroxidação. A oxidação lipídica é responsável por causar sabor desagradável aos óleos, perda de nutrientes e formação de substâncias tóxicas (O'CONNOR & O'BRIEN, 2006).

É uma reação espontânea que acontece pelo ataque do oxigênio aos ácidos graxos insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados, e o seu mecanismo envolve três etapas consecutivas: iniciação, propagação e terminação, conforme o mecanismo mostrado na Figura 3.3.

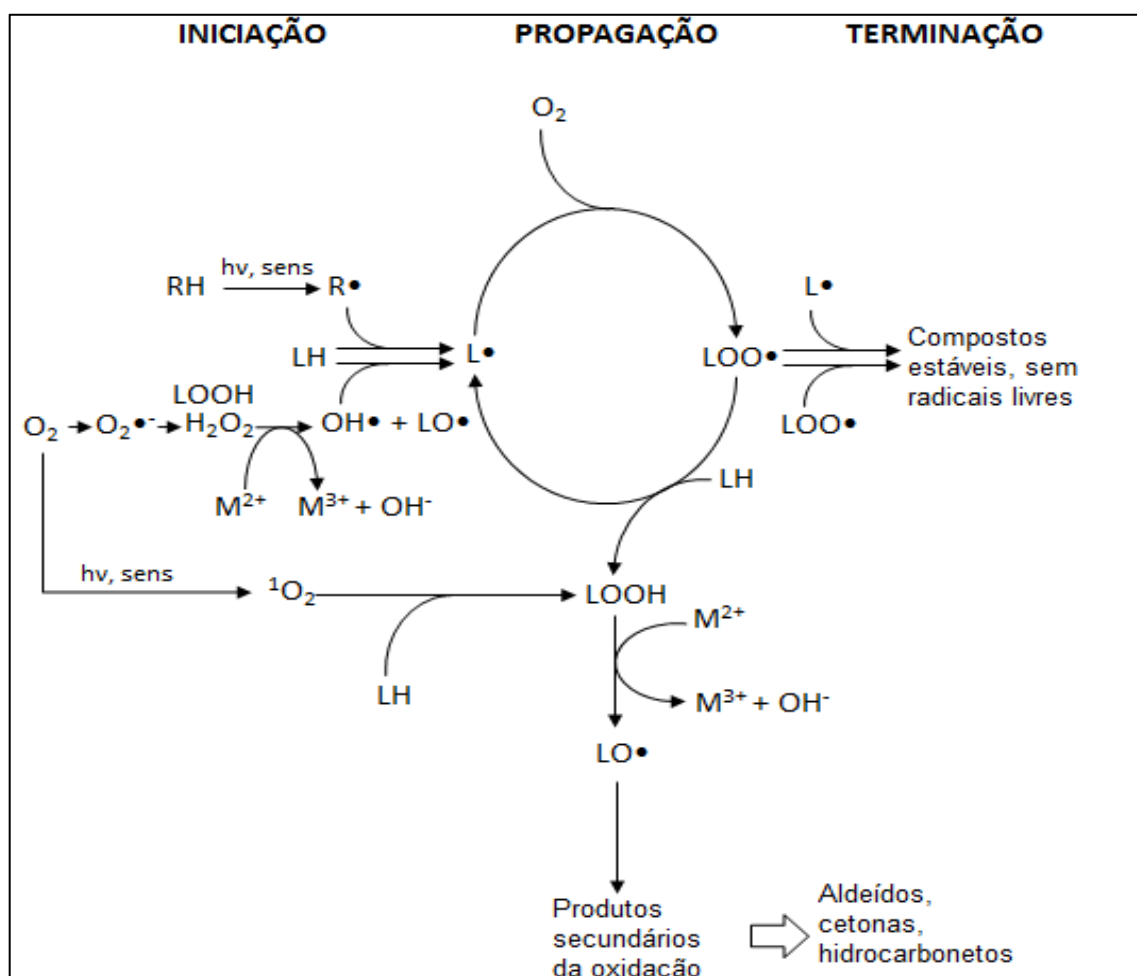


Figura 3.3 – Mecanismo de oxidação lipídica. Adaptado de BERDAHL *et al.* (2010).

Na etapa inicial, fatores como calor, luz, enzimas, íons metálicos e oxigênios reativos provocam a formação de radicais livres (KANNER *et al.*, 1987; ERICKSON, 2002), espécies responsáveis pelo início da oxidação lipídica devido à sua forte tendência em adquirir elétrons (CHOE & MIN, 2006). Em vegetais, a ação da lipoxigenase antes e durante a extração do óleo pode conduzir a formação de pequena quantidade de hidroperóxidos. A principal reação de iniciação de oxidação em óleos vegetais é pela presença de hidroperóxidos, uma reação de baixa energia catalisada por íons metálicos. Nesta fase, os radicais livres formados retiram um hidrogênio do ácido graxo insaturado (LH), formando o radical lipídico ($L\bullet$), altamente instável.

Na etapa de propagação, o radical ($L\bullet$) reage rapidamente com o oxigênio atmosférico para a formação dos radicais peróxidos ($LOO\bullet$). Novamente, os radicais instáveis formados ligam-se ao hidrogênio dos lipídios insaturados (LH) resultando nos hidroperóxidos ($LOOH$), que são os produtos primários da oxidação, e novos radicais livres ($L\bullet$), propagadores da reação em cadeia. Nesta etapa, os hidroperóxidos formados podem se decompor pela reação com íons metálicos para a formação de novos radicais reativos, os alcoxi ($LO\bullet$), que por sua vez, decompõem-se em produtos secundários da oxidação (aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos).

Na finalização, os radicais livres se combinam para formar os compostos estáveis. Embora seja de baixa energia, a reação de terminação é limitada pela concentração de radicais livres e pela correta orientação dos mesmos para que possam colidirem entre si. Esta fase é caracterizada pelo aumento da viscosidade do óleo decorrente da formação de compostos poliméricos (JENSEN, 2002).

Segundo KAMAL-ELDIN (2006), a taxa de oxidação dos lipídios aumenta na ordem 1:40:80 de acordo com o número de insaturações na cadeia ($n=1, 2, 3$), respectivamente. Assim, o óleo de crambe, constituído em sua maior parte por ácidos graxos monoinsaturados, é um óleo considerado altamente estável. Esse aspecto é uma vantagem para a cadeia produtiva do crambe, pois o tempo de comercialização do óleo pode ser estendido sem que ocorra a degradação do mesmo e, além disso, reduz os custos de armazenamento por não necessitar de grande quantidade de antioxidantes adicionais.

3.2.2 Avaliação da estabilidade oxidativa - DSC

Como já dito, a oxidação lipídica é um processo espontâneo que incide diretamente na qualidade e tempo de prateleira dos produtos. Métodos de oxidação acelerada são utilizados para verificar a resistência dos lipídios à degradação, visto que o monitoramento das alterações ocorridas nestes produtos em condições normais de armazenamento se torna inviável (ANTONIASSI, 2001; SILVA *et al.*, 1999).

Nestas técnicas, os lipídios são submetidos a fatores que favorecem o início da oxidação, como luz, calor, metais, oxigênio, etc, e, posteriormente o seu estado oxidativo é monitorado com o objetivo de se obter o parâmetro período de indução, que é o tempo para atingir nível de rancidez detectável ou para que ocorra um aumento repentino na taxa de oxidação (VELASCO *et al.*, 2004).

Os métodos utilizados para este fim se dividem em cinco grupos com base no que eles medem: a absorção de oxigênio, perdas de substratos iniciais, formação de radicais livres e formação de produtos de oxidação primários e secundários (DOBARGANES & VELASCO, 2002).

Embora o mecanismo mostrado na Figura 3.3 pareça simples, deve-se levar em consideração que os lipídios são constituídos de uma mistura não homogênea de ácidos graxos, com diferentes tamanhos de cadeia, posição e número de insaturações. Consequentemente, muitas reações acontecem em diferentes velocidades durante a oxidação lipídica e essas reações, por sua complexidade, não podem ser medidas por um simples método que, na maioria, quantificam somente um ou mais produtos das diferentes etapas das reações (KAMAL-ELDIN & POKORNÝ, 2005). Nesse sentido, a técnica DSC surge como uma alternativa bastante promissora para a avaliação de parâmetros de estabilidade de óleos.

Baseada na medida do calor liberado pelas reações oxidativas, a técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) tem sido amplamente utilizada para medir a estabilidade oxidativa de óleos por ser um método simples, rápido, confiável, que usa pequena quantidade de amostra e não utiliza reagentes ou

solventes químicos (SHAHIDI & ZHONG, 2010; SALDAÑA & MARTÍNEZ MONTEAGUDO, 2013).

Nesta técnica, o calor liberado pelas reações de oxidação, tanto em análises isotérmicas quanto não-isotérmicas, é comparado ao calor que flui de um material-referência, ambos aquecidos à mesma taxa. O calor liberado em cada etapa da oxidação é proporcional à quantidade de amostra analisada. Na Figura 3.4 apresenta-se um termograma ideal de oxidação, com as três etapas de oxidação (iniciação, propagação e terminação).

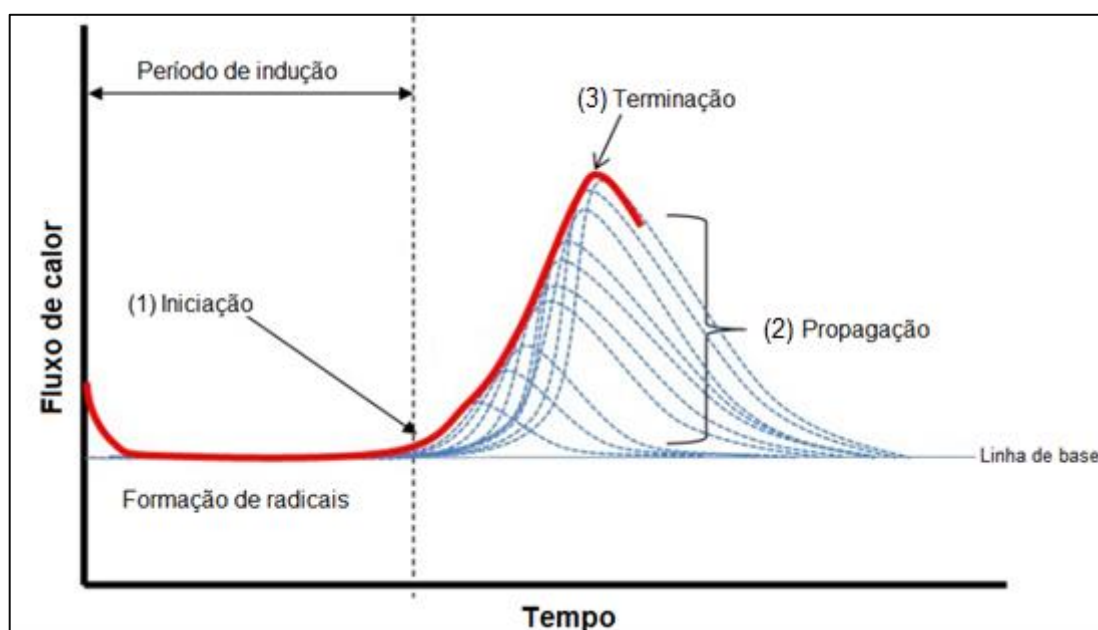


Figura 3.4 – Termograma ideal da oxidação lipídica isotérmica. Adaptado de SALDAÑA & MARÍNEZ-MONTEAGUDO (2013).

A duração do período de indução é uma medida da estabilidade do óleo e, como pode ser visto na Figura 3.4, durante este período não ocorrem reações químicas. A separação do sinal do fluxo de calor da linha de base indica o início da oxidação (etapa inicial - 1). É nesta etapa que ocorrem as reações dos radicais livres formados durante o período de indução e os ácidos graxos insaturados, formando os hidroperóxidos, produtos instáveis que rapidamente propagam a reação de oxidação (etapa de propagação - 2). E, na etapa de terminação (3) são formados os produtos estáveis.

Apesar das técnicas que se baseiam no aumento da condutividade elétrica pela formação de voláteis, com a utilização dos equipamentos *Rancimat* e *Oil Stability Instrument* OSI, serem as mais aplicadas para a análise de estabilidade de óleos, nota-se que a técnica DSC tem sido extensivamente aplicada e correlacionada satisfatoriamente com esses métodos, com a principal vantagem de redução de tempo de análise, uma vez que na oxidação pelo DSC emprega-se oxigênio puro enquanto que no *Rancimat* utiliza-se fluxo de ar (aproximadamente 21% de oxigênio).

TAN *et al.* (2002) avaliaram os métodos DSC e OSI na estabilidade oxidativa de diferentes óleos vegetais com o objetivo preliminar de encontrar correlação entre os métodos. Os autores, além de verificarem que os resultados obtidos pelo DSC são tão confiáveis quanto os obtidos pelo método OSI, concluíram que cada aumento de 10 °C na temperatura aplicada na análise DSC reduz o tempo de indução pela metade.

ARAIN *et al.* (2009) oxidaram isotermicamente amostras de óleo das sementes de *Bauhinia purpurea*, de farelo de arroz e de sementes de algodão em DSC e *Rancimat* e verificaram que, embora o tempo de oxidação utilizando o segundo método fosse menor, os tempos de indução oxidativa obtidos por ambas as técnicas mostraram elevada correlação.

Da mesma forma, tempos de indução menores foram obtidos com o uso DSC, comparado ao método do *Rancimat*, na análise oxidativa do óleo da polpa de buriti, das sementes de seringueira e maracujá (PARDAUIL *et al.*, 2011).

3.2.3 Atuação dos antioxidantes

Os componentes de óleos podem ser divididos em dois grupos, os glicerídeos e os não-glicerídeos. Pertencentes ao primeiro grupo estão os produtos da esterificação da molécula de glicerol com até três moléculas de ácidos graxos, dentre estes incluem-se os triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, fosfolipídeos, entre outros. A fração não ligada ao glicerol (também conhecida como fração insaponificável) é formada por esteróis, ácidos

graxos livres, tocoferóis/tocotrienóis (importantes antioxidantes), compostos fenólicos, carotenóides, pigmentos, metais, etc. (GUSTONE, 2005).

Antioxidantes são compostos que significativamente inibem ou retardam processos oxidativos (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007). São classificados de acordo com seu mecanismo de ação: os primários removem ou inativam os radicais livres formados durante a iniciação ou propagação das reações oxidativas e os secundários, também conhecidos como preventivos, diminuem a taxa das reações de oxidação. Alguns antioxidantes exibem, ainda, mais de um mecanismo de ação, sendo referidos como antioxidantes mistos (LUZIA & JORGE 2009).

Os antioxidantes primários são os mais efetivos, pois interrompem a ação dos radicais livres, conhecidos por iniciar o processo de oxidação ou de propagar a reação em cadeia. Normalmente, estes antioxidantes contêm anel aromático ou fenólico e são capazes de doar um átomo de hidrogênio para os radicais livres, formando espécies inativas e um radical inerte do antioxidante ($A\bullet$). O radical formado é estabilizado por ressonância, não sendo capaz de iniciar ou propagar reações de oxidação. O mecanismo da reação dos antioxidantes primários é dado pelas Equações 3.1 e 3.2 e o mecanismo da estabilização do radical formado é apresentado na Figura 3.5.

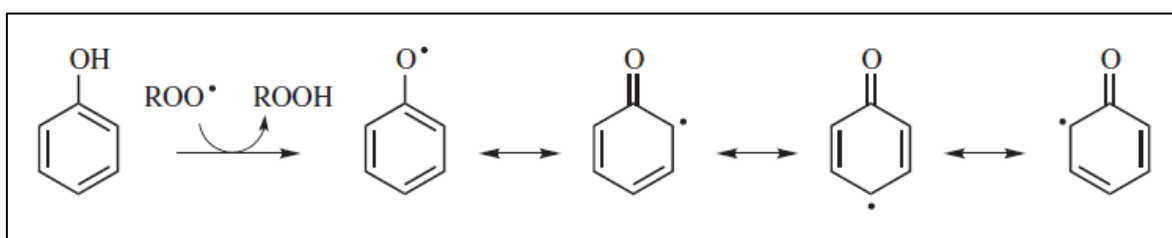


Figura 3.5 – Estabilização do radical fenólico inerte do antioxidante por ressonância (WANASUNDARA & SHAHIDI, 2005).

Dentre os naturais, os tocoferóis são os mais importantes antioxidantes presentes nos óleos vegetais (RAMALHO & JORGE, 2006). Tocoferóis e tocotrienóis são oito compostos (α , β , γ e δ) que juntos compreendem a vitamina E. São constituídos de um núcleo cromanol, formado por um anel fenólico e outro heterocíclico, ligados a uma cadeia isoprênica formada por 16 carbonos. Ambos possuem a mesma estrutura, no entanto, os tocoferóis possuem cadeia saturada, enquanto os tocotrienóis apresentam três duplas ligações. Apresentam uma variedade de isômeros que diferem na estrutura de acordo com o número e a localização de grupos substituintes no anel cromanol (Figura 3.6 e Tabela 3.2).

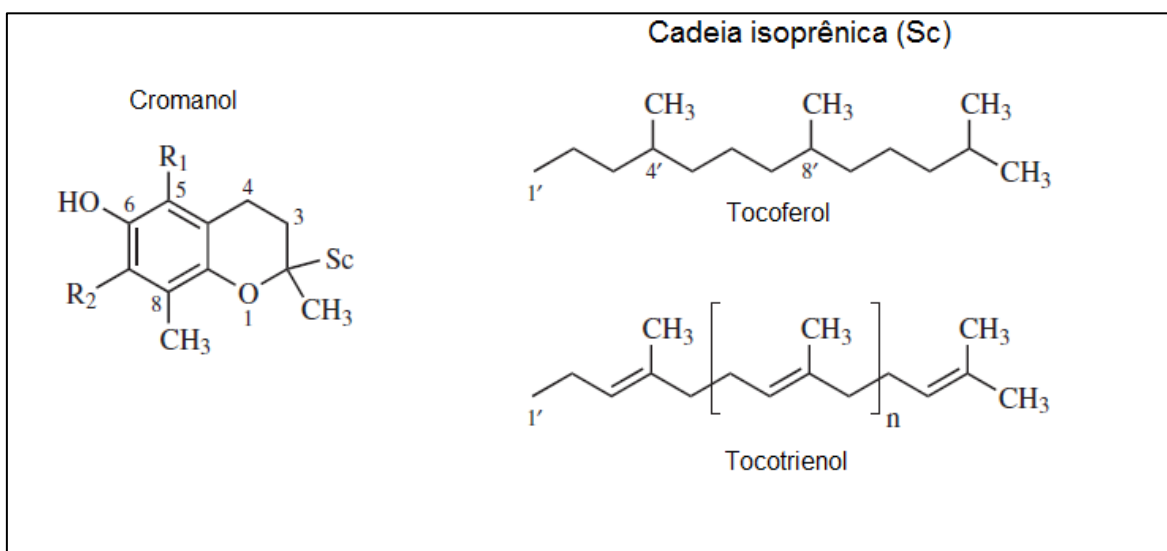


Figura 3.6 – Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis (Adaptado de KAMAL-ELDIN, 2005).

Tabela 3.2 – Grupos substituintes dos anel cromanol (Adaptado de KAMAL-ELDIN, 2005).

Tocoferol	Tocotrienol	R ₁	R ₂
α -tocoferol	α -tocotrienol	CH ₃	CH ₃
β -tocoferol	β -tocotrienol	CH ₃	H
γ -tocoferol	γ -tocotrienol	H	CH ₃
δ -tocoferol	δ -tocotrienol	H	H

A atividade antioxidante dos tocoferóis é atribuída à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais lipídicos. *In vivo*, a atividade

antioxidante dos α , β , γ e δ decresce nesta ordem enquanto que em óleos vegetais a atividade aumenta nesta ordem (DIAZ *et al.*, 2004).

A atividade antioxidante dos tocoferóis é dependente da temperatura. À 80 °C, a atividade do δ -tocoferol é cerca de duas vezes a do α -tocoferol, sendo que este último começa a se desativar acima dos 110 °C. Ambos perdem a atividade antioxidante acima dos 150 °C (REBLOVA, 2006).

De acordo com SCHMIDT & POKORNÝ (2005), os tocoferóis estão presentes nos óleos vegetais em concentrações próximas à da atividade máxima dos mesmos. Em um estudo realizado por GOFFMAN *et al.* (1999), foram relatados teores de 68 a 2474 mg de tocoferol por quilo de óleo para espécies da família Brassicaceae, à qual o crambe pertence, sendo predominante o γ -tocoferol.

3.3 Farelo do crambe

Após a extração do óleo de crambe, dependendo da tecnologia empregada, resulta o subproduto do crambe: torta ou farelo. Quando a extração é realizada de forma mecânica obtém-se a torta, que contém um residual de óleo em torno de 15-29% (SOUZA *et al.*, 2009). Já quando se aplica a extração com solvente, o residual de óleo chega a menos 3-5% (GOULARTE *et al.*, 2010), obtendo-se o farelo. Ambos apresentam qualidade proteica para serem utilizados como suplemento na alimentação de ruminantes (MIZUBUTI *et al.*, 2011).

Quando processado com casca, o farelo possui de 25 a 35% de proteína e 46 a 58% de proteína quando sem casca (FALASCA *et al.*, 2010), com uma boa composição de aminoácidos essenciais, semelhante a caseína (HARTWIG *et al.*, 2005; YONG-GANG *et al.*, 1993).

Entretanto, a presença de glucosinolatos na torta/farelo restringe a utilização deste subproduto na alimentação de animais. Os glucosinolatos contêm enxofre e são tóxicos aos suínos e aves (FAHEY *et al.*, 2001), pois geram produtos tóxicos quando degradados e/ou conjugados por bactérias no intestino dos mesmos (WALLIG *et al.*, 2002) podendo causar danos ao fígado, ao

rim e diminuição no apetite (OPLINGER *et al.*, 1991; WALLIG *et al.*, 1992). No entanto, em ruminantes estes produtos têm pouco efeito.

Estudos revelam tratamentos específicos podem ser utilizados para remover ou reduzir o teor de glucosinolatos em farelo, dentre eles: irradiação por microondas (MAHESHWARI *et al.*, 1980; AUMAITRE *et al.*, 1989); tratamentos com soluções metálicas (LUDKE & SCHONE, 1988; DAS & SINGHAL, 2005); processos de extrusão (HUANG *et al.*, 1995); fermentação (VIG & WALIA, 2001; RAKARIYATHAM & SAKORN, 2002); tratamentos térmicos (JENSEN *et al.*, 1995; NEWKIRK *et al.*, 2003), entre outros.

O órgão responsável pela defesa animal e vegetal dos Estados Unidos (FDA – *Food and Drug Administration*) aprovou a adição de 4,2% do farelo de crambe na dieta de bovinos de corte, no entanto, não foi aprovado para a alimentação de não ruminantes.

Os farelos de oleaginosas também são fontes importantes de compostos bioativos antioxidantes, principalmente de compostos fenólicos mais polares, tais como os ácidos fenólicos e flavonóides (SCHMIDT & POKORNÝ, 2005) que, por possuírem pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, são capazes de inibir a oxidação lipídica, ou seja, são antioxidantes primários. Alguns, ainda, têm potencial como quelantes de metais (CARTEA *et al.*, 2011).

Entretanto, os compostos fenólicos presentes nos farelo causam adstringência, escurecimento, odores desagradáveis, sabor amargo (SHAHIDI & NACZK, 2004), e, portanto devem ser removidos ou terem seus teores reduzidos para aplicação na alimentação de animais.

Desta forma, esses resíduos podem ser fontes valiosas de compostos antioxidantes para alimentos, em substituição aos antioxidantes sintéticos, como o butil-hidroxi-anisol (BHA) e o butil-hidroxi-tolueno (BHT), que possuem vários inconvenientes como: são altamente voláteis, instáveis em altas temperaturas e suspeitos de terem propriedades tóxicas (BOTTERWECK *et al.*, 2000).

MATTHAUS (2002) realizou a extração de compostos fenólicos no farelo de crambe (*Crambe abyssinica*) empregando diferentes solventes e encontrou teores de 3,6 a 16,6 mg g⁻¹. Dentre estes, foram quantificados os flavonóides, sendo obtidos de 0,64 a 9,36 mg de catequina g⁻¹ de farelo.

3.4 Métodos de extração do óleo

3.4.1 Método convencional

A prensagem é o método mais popular para obtenção de óleo de oleaginosas (MREMA & MCNULTY, 1985 citado por SINGH & BARGALE, 2000), podendo ser realizada também a extração com solvente ou a combinação de ambos os métodos (MORETTO e FETT, 1998).

O processo de extração por prensa mecânica realiza o esmagamento das sementes removendo parcialmente o óleo. A operação é simples e facilmente adaptável a diversos tipos de oleaginosas, bastando para isso alguns simples ajustes mecânicos. Segundo SINGH & BARGALE (2000) o processo feito sem uso de produtos químicos é bem mais seguro, podendo ser instalado em pequenas propriedades rurais além de permitir o uso do subproduto da extração mecânica, torta rica em proteína, como adubo e ração animal.

A eficiência da extração por prensagem do óleo de crambe depende do tipo de equipamento utilizado. De acordo com ATABANI *et al.* (2013), as prensas hidráulicas retiram de 60-65% do óleo contido em sementes, enquanto que as prensas *expellers* (tipo parafuso) extraem de 68-80%, isso porque a matéria-prima pode ser submetida a prensagens por diversas vezes.

Segundo a Fundação MS (PITOL *et al.*, 2010), em testes utilizando os equipamentos de prensagem existentes no mercado (com sistemas de pré-aquecimento, cozinhadores ou sistema de extrusão), extraíram-se em torno de 70% do óleo total presente nas sementes de crambe. SOUZA *et al.* (2009), atingiram 79% de eficiência na extração aplicando a dupla prensagem sem pré-aquecimento.

A extração por prensagem apresenta o inconveniente de necessitar de etapa posterior de filtração para remoção de resíduos sólidos do óleo além da parte sólida resultante deste processo, a torta, apresentar elevado teor de óleo, segundo TANDY (1991), de 12% em média. Ainda, as prensas existentes no mercado são projetadas para alguns tipos de sementes sendo que a extração de

óleo de outros tipos de oleaginosas fica comprometida (MAHANTA & SHRIVASTAVA, 2004).

Na indústria, a extração de óleos vegetais é, tradicionalmente, realizada em duas etapas: prensagem mecânica seguida da utilização de solventes (PEDERSSETTI, 2008). A solubilização do óleo no solvente ocorre por dois mecanismos: a dissolução por simples contato entre as células vegetais destruídas durante a prensagem ou moagem, ou através de difusão, onde o óleo atravessa lentamente as paredes semipermeáveis das células para o meio líquido (RAMALHO & SUAREZ, 2013). O solvente mais empregado é o hexano por ser seletivo, possuir estreita faixa de ebulição e ser imiscível com a água, o que evita misturas azeotrópicas (MORETTO e FETT, 1998).

Outra técnica utilizada usualmente para a obtenção de óleo em pequena escala é a extração Soxhlet, tida como referência para comparação de rendimento em óleo com outras técnicas. Nesta técnica, também são utilizados solventes orgânicos, notadamente o hexano, e consiste na remoção de compostos solúveis pela passagem do solvente pela amostra por diversas vezes (WU *et al.*, 2011).

Para a remoção do solvente do óleo e do farelo é necessária uma operação adicional de evaporação (GEANKOPLIS, 2003), que aumenta o custo do processo, podendo causar perda de compostos voláteis importantes. Além disso, o uso de solventes orgânicos, como o hexano, apresenta muitas desvantagens, tais como: alta inflamabilidade, alta capacidade explosiva, potencial poluidor além de ser provindo de fonte não renovável. Assim, a utilização deste vem encontrando restrições. (TEMELLI, 2008, AHANGARI & SARGOLZAEI, 2012).

3.4.2 Extração com fluido no estado supercrítico ou subcrítico

Tendo em vista os elevados tempos de extração empregando as técnicas convencionais como prensagem e extração com solventes, além de etapas posteriores serem requeridas para separação de resíduos sólidos e/ou solventes,

a extração com fluidos no estado supercrítico ou subcrítico surge como uma alternativa atraente.

A temperatura crítica de um gás é aquela acima da qual o gás não pode mais ser liquefeito, não importando a quanto se eleve a pressão. Analogamente, a pressão crítica de um gás é definida como sendo aquela acima da qual o gás não pode mais ser convertido em líquido pela diminuição temperatura (MAUL, 1999).

Quando uma substância encontra-se acima da sua temperatura e pressão críticas, Figura 3.7, ela é definida como sendo um fluido supercrítico, que se caracteriza por combinar propriedades tanto da fase líquida como da fase gasosa (PENEDO, 2007), como mostrado na Tabela 3.3.

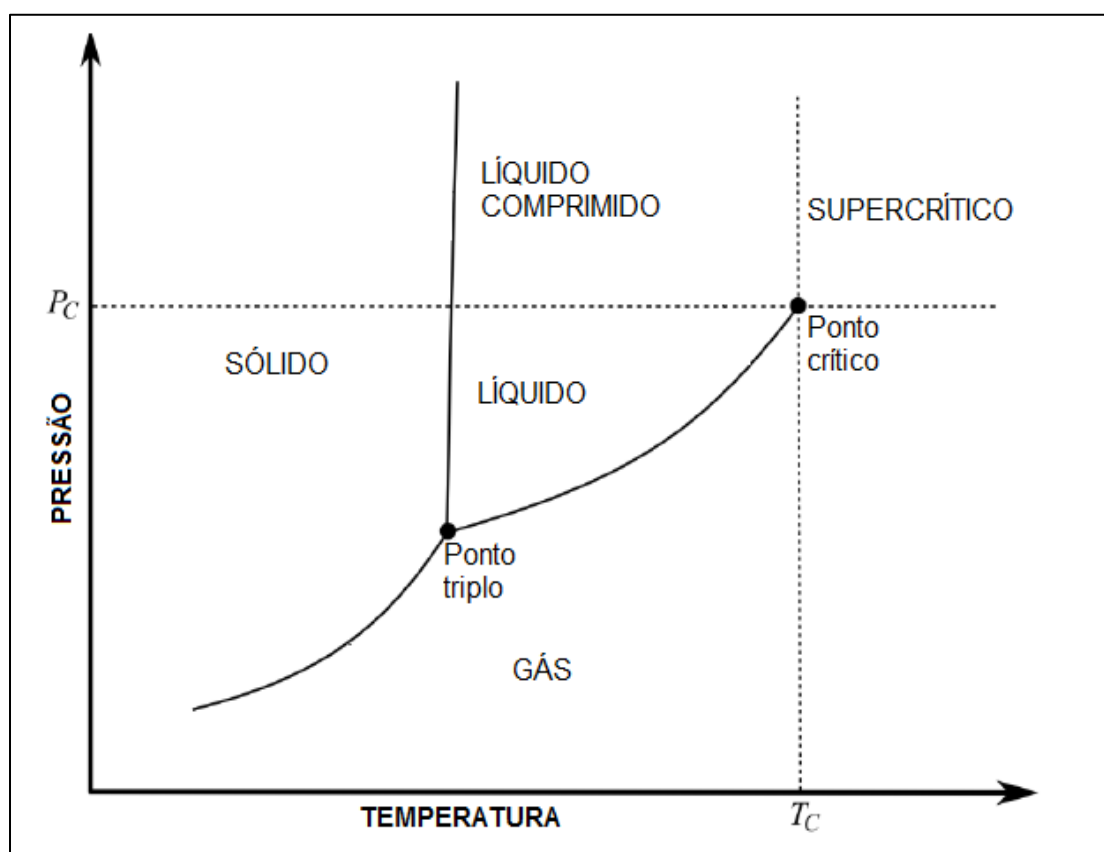


Figura 3.7 – Diagrama de fases para substância pura (Adaptado de SMITH, VAN NESS & ABBOTT, 2005).

Tabela 3.3 – Propriedades físicas dos diferentes estados do fluido (BRUNNER, 2005).

Estado	Densidade (g cm ⁻³)	Difusividade (cm ² s ⁻¹)	Viscosidade (g cm ⁻¹ s ⁻¹)
Gás			
P= 1 bar T= 15-30 °C	(0,6 – 2,0)x10 ⁻³	0,1 – 0,4	(0,6 – 2,0)x10 ⁻⁴
Líquido			
P= 1 bar T= 15-30 °C	0,6 – 1,6	(0,2 – 2,0)x10 ⁻⁵	(0,2 – 3,0)x10 ⁻²
Supercrítico			
P= P _c ; T=T _c	0,2 – 0,5	0,7x10 ⁻³	(1 – 3)x10 ⁻⁴
P= 4P _c ; T=T _c	0,4 – 0,9	0,2x10 ⁻³	(3 – 9)x10 ⁻⁴

Entretanto, a transição de fase de uma substância no estado líquido ou gasoso para o estado supercrítico não ocorre descontinuamente, como sugerido pelo diagrama de fases. Assim, o estado supercrítico é obtido pelo aumento simultâneo da temperatura e pressão da substância, modificando o estado de agregação entre as moléculas (LANÇAS, 2002).

Nas condições supercríticas, o gás comprimido apresenta elevada densidade (próxima à de líquidos), o que fortalece as suas propriedades de solvente, por outro lado, a viscosidade, a difusividade e a tensão superficial apresentam valores próximos aos do estado gasoso, o que torna as propriedades de transporte favoráveis ao processo de extração (grande molhabilidade e poder de penetração nas matrizes porosas dos sólidos). Este fluido pode ser considerado tanto como um líquido expandido como um gás comprimido e essas características conferem ao fluido supercrítico boas condições de serem utilizados em processos de extração de solutos a partir de matrizes sólidas (RODRIGUES, 2005).

Outra importante característica da extração supercrítica é que as propriedades físicas dos solventes (densidade, difusividade, viscosidade, constante dielétrica) podem ser alteradas pela alteração da pressão e da

temperatura, tornando-o mais seletivo durante a extração (PRONYK & MAZZA, 2009).

Quando uma substância encontra-se no estado líquido, aumentando sua temperatura a uma pressão constante, a densidade diminui constantemente tendendo atingir o estado gasoso. Caso a pressão aplicada seja suficientemente elevada, de forma que a substância não chegue ao estado gasoso, a mesma estará em um estado intermediário entre o líquido e gasoso. Neste caso, se a temperatura e a pressão estiverem acima dos seus valores críticos, a substância estará no estado supercrítico. Entretanto, se uma das variáveis não estiver acima do seu valor crítico, a substância é dita estar no estado subcrítico.

Da mesma forma, aumentando a pressão de um gás à temperatura constante ocorre a elevação da densidade, tendendo atingir o estado líquido, coexistindo ambos os estados líquido e gasoso e, se a temperatura ou pressão não encontrar-se acima do seu valor crítico, a substância estará no estado subcrítico (LANÇAS, 2002).

Substâncias que estejam em um estado próximo à região supercrítica (líquido ou gasoso) exibem propriedades físicas semelhantes às do estado supercrítico, isso porque, segundo o diagrama de fases, não há alteração brusca das propriedades quando se move do estado supercrítico para o estado líquido ou gasoso (FERREIRA, 1991; QUEIROZ, 1993).

A aplicação da extração com fluidos supercríticos teve início na Alemanha, no final dos anos 70, com o processo de remoção da cafeína do café. Desde então, o emprego da extração supercrítica em processos industriais vem se destacando principalmente pela qualidade dos extratos obtidos e também pelos aspectos ambientais envolvidos: é uma tecnologia limpa, livre de resíduos tóxicos, os extratos não sofrem degradação térmica quando são utilizadas temperaturas amenas, e ainda não é necessário aplicar um tratamento posterior à extração para eliminação de solvente, já que esse é eliminado por meio da despressurização do sistema (MAUL, 1999; MICHIELIN *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2006).

O processo de extração supercrítica de matrizes sólidas consiste de duas etapas: a extração e a separação do extrato do solvente. Na extração, o solvente

atravessa um leito fixo de partículas sólidas que o absorvem, fazendo com que a estrutura das células dilate o que causa a diminuição da resistência à transferência de massa. Os componentes solúveis da matriz sólida são dissolvidos e transferidos por difusão de dentro do sólido e transportados pelo fluido. A transferência de massa ocorre até que o equilíbrio seja alcançado (BRUNNER, 1994). O leito é encamisado para que se possa fazer o controle da temperatura. A segunda etapa é a separação do extrato do solvente, que ocorre devido à diferença de pressão na saída do extrator, sem haver a necessidade de etapas posteriores de purificação do extrato para separá-lo do solvente.

A escolha de um solvente para extração como fluido supercrítico ou subcrítico depende dos compostos que se deseja solubilizar. Em geral, o solvente deve apresentar boa solubilidade no soluto a ser extraído, ser inerte e de fácil separação do produto, ter baixo custo e atóxico (HIERRO, 1994). A Tabela 3.4 apresenta alguns exemplos de substâncias que podem ser utilizadas como fluidos supercríticos e sua respectiva T_c e P_c.

Tabela 3.4 – Propriedades críticas de alguns solventes que podem ser empregados na extração supercrítica (DIEHL, 2008).

Solvente	Temperatura Crítica (°C)	Pressão Crítica (bar)
Dióxido de Carbono	31,10	73,76
Etano	32,30	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	40,73
Benzeno	289,00	48,94
Tolueno	318,60	41,14
Clorotrifluormetano	28,90	39,21
Amônia	132,50	112,77
Água	374,20	220,48

O CO₂ supercrítico é o solvente mais utilizado nos processos de extração supercrítica, pois apresenta caráter não tóxico e não inflamável, é ambientalmente seguro, apresenta alta disponibilidade e alcança alto grau de pureza a baixo custo (DÍAZ-REINOSO *et al.*, 2006, HUANG *et al.*, 2011).

O propano também tem sido utilizado para extração de produtos naturais, sendo em muitos casos, melhor solvente que o dióxido de carbono. Embora não apresente algumas das vantagens do dióxido de carbono, ele é relativamente barato, não deixa resíduo tóxico e tem alto poder de solvatação (SPARKS, 2006). Ainda, as pressões empregadas na extração são menores e a solubilidade do propano em óleos vegetais é maior quando comparada a solubilidade do dióxido de carbono.

Geralmente, na utilização do propano como solvente, são empregadas temperaturas abaixo da sua temperatura crítica, tendo em vista que seu elevado valor (96,7 °C) pode comprometer a qualidade do produto final. Neste caso, o fluido é definido como subcrítico, ou então, como líquido comprimido (KING *et al.*, 2011).

Dessa forma, do ponto de vista econômico, processos com baixas pressões e temperaturas podem reduzir custos na extração, apresentando alto rendimento, baixos tempos de extração e menor consumo de solvente (ILLÉS *et al.*, 2000; BRAVI *et al.*, 2002; CORSO *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2008; PEDERSSETTI *et al.*, 2011).

A extração com fluidos pressurizados torna-se uma alternativa para substituir os métodos convencionais. Dentre algumas vantagens, podem ser citadas: facilidade de remoção do solvente após a extração, sem a necessidade de etapas posteriores; os extratos quase não sofrem hidrólise, oxidação, esterificação, caramelização ou alterações térmicas; maior difusividade do soluto; a seletividade de um dado soluto pode ser controlada manipulando-se a densidade do solvente ou ainda, adicionando-se um co-solvente e o extrato fica isento de solventes (REVERCHON & OSSÉO, 1993).

A principal desvantagem da extração supercrítica é o elevado custo de estruturação inicial, uma vez que, trabalhar com elevadas pressões exige equipamentos de qualidade e de segurança. Entretanto, SOVOVÁ (1994) afirma

que embora os equipamentos de alta pressão sejam mais caros do que aqueles usados nos processos de separação convencional, o custo de operação é geralmente inferior, conseqüentemente, os custos totais são comparáveis se os processos são realizados em condições ótimas de operação.

3.4.2.1 Aplicação de propano subcrítico na extração de óleo

Na maioria dos casos, tem-se que os rendimentos e as taxas de extração de óleos vegetais são baixos quando utilizado o dióxido de carbono. FERREIRA *et al.* (2011) e NDIAYE *et al.* (2006) relatam que isso se deve à baixa solubilidade dos triacilglicerídeos neste solvente. Neste contexto, o propano se torna uma alternativa atraente na obtenção destes solutos, pois como já dito, apresenta maior solubilidade em óleos vegetais em relação ao CO₂ e, assim, torna a extração mais rápida, com maior rendimento e menor consumo de solvente.

FREITAS *et al.* (2008) empregaram dióxido de carbono e propano pressurizado na extração do óleo de sementes de uva. Para o CO₂, utilizaram temperaturas variando de 30 a 60 °C e pressões de 60 a 254 bar e, para o propano fixou-se a pressão em 100 bar avaliando as temperaturas de 30 e 45°C. O propano mostrou-se mais favorável à extração do óleo, com rendimentos elevados e cinética de extração mais rápida.

CORSO *et al.* (2010), avaliaram os fluidos propano subcrítico e dióxido de carbono supercrítico na extração de óleo de gergelim. Para o CO₂, empregaram temperaturas de 30 a 60 °C e pressões de 190 a 250 bar. Já para o propano, foram testadas temperaturas de 30 a 60 °C e pressões de 80 a 120 bar. O propano mostrou-se mais vantajoso que o dióxido de carbono, pois foram obtidas maiores taxas de extração do óleo com menor consumo de solvente empregando condições de pressão inferiores.

PEDERSSETTI *et al.* (2011) estudaram a extração do óleo de canola utilizando dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico. Para o CO₂ as temperaturas utilizadas foram de 40 a 60 °C e pressões de 200 a 250 bar; para o

propano foram utilizadas temperaturas de 30 a 60 °C e pressões de 80 a bar. O propano apresentou maior rendimento em tempo menor de extração.

NIMET *et al.* (2011) avaliaram o emprego de dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico na extração de óleo de sementes de girassol. As temperaturas empregadas na extração com CO₂ foram de 40 a 60 °C e pressões de 190 a 250 bar. Para o propano, os experimentos foram conduzidos com temperaturas de 30 a 60 °C e pressões de 80 a 120 bar. Da mesma forma que os trabalhos descritos anteriormente, o propano mostrou-se melhor solvente que o dióxido de carbono.

Na extração do óleo das sementes de romã, AHANGARI & SARGOLZAEI (2012) empregaram dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico e, novamente o propano mostrou ser um solvente adequado e seletivo para a extração de óleo, devido ao menor tempo de extração (80 minutos com o propano e 180 com o CO₂) e pressões mais baixas que as do CO₂ supercrítico (de 80 a 120 bar com o propano e de 200 a 300 bar com o CO₂).

Na extração do óleo de crambe ONOREVOLI (2012) também empregou ambos os fluidos dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico. A autora relata que a extração com CO₂ supercrítico não foi viável, em função do baixo rendimento. Entretanto, para o propano foram estudadas as temperaturas de 20 a 60 °C com pressão de 150 bar. Os resultados mostraram que o propano é apropriado para a obtenção do óleo de crambe, atingindo elevado rendimento em baixo tempo de extração e baixo consumo de solvente. Em média 25% de rendimento em massa foram obtidos em 20-30 minutos de extração, sendo que rendimentos semelhantes foram obtidos com a extração por prensagem e Soxhlet, entretanto, empregando 72 e 5 horas, respectivamente.

3.5 Modelagem matemática

A modelagem matemática permite que os resultados obtidos através de experimentos em escala laboratorial possam ser aplicados a novas condições de trabalho. Assim, a principal vantagem da modelagem é a predição das curvas de extração num processo em larga escala, pois experimentos nesse nível são

dispendiosos (MARTÍNEZ *et al.*, 2003; MARTINEZ & MARTINEZ, 2008). Além disso, permite avaliar o comportamento cinético da extração.

Existem três tipos de abordagem matemática que descrevem as curvas de extração supercrítica: empírico; baseados em analogia entre transferência de calor e massa; e aqueles por balanço de massa diferencial (REVERCHON & DE MARCO, 2006). Dentre estes, os modelos empíricos se limitam a condições operacionais específicas, visto que os dados experimentais são ajustados a uma simples equação empírica (MARTÍNEZ, 2002).

Modelos baseados em balanços de massa levam em consideração a existência de duas fases: uma fase sólida composta da matriz vegetal, de onde se busca extrair os compostos de interesse; e uma fase fluida composta do solvente supercrítico mais o extrato dissolvido nele (BRUNNER, 1994).

Nesta abordagem, o sistema de extração é considerado um leito cilíndrico formado por partículas da matéria-prima dispostas de forma homogênea pelo qual o solvente flui axialmente, solubilizando e arrastando os compostos. Os fenômenos de transferência de massa que ocorrem neste processo são: difusão na matriz sólida, transferência de massa na interface sólido-fluido, dispersão e convecção no fluido.

Em geral, nos processos de transferência de massa que ocorrem em cilindros com comprimento bem maior que o diâmetro e velocidade de fluido na direção axial, são desprezadas todas as formas de transferência que ocorrem nas direções radiais e tangenciais. Desta forma, considerando-se, ainda, a não ocorrência de reações química, o balanço de massa para as duas fases do sistema é dado pelas Equações 3.3 e 3.4.

Para a fase fluida:

$$\underbrace{\frac{\partial Y}{\partial t}}_{\text{Acúmulo}} + \underbrace{u \frac{\partial Y}{\partial h}}_{\text{Convecção}} = \underbrace{\frac{\partial}{\partial h} \left(D_{AY} \frac{\partial Y}{\partial h} \right)}_{\text{Dispersão}} + \underbrace{\frac{J(X,Y)}{\rho_F}}_{\text{T.M. Interfacial}} \quad (3.3)$$

Para a fase sólida:

$$\underbrace{\frac{\partial X}{\partial t}}_{\text{Acúmulo}} = \underbrace{\frac{\partial}{\partial h} \left(D_{AX} \frac{\partial X}{\partial h} \right)}_{\text{Difusão}} - \underbrace{\frac{J(X,Y)}{(1-\varepsilon)\rho_s}}_{\text{T.M. Interfacial}} \quad (3.4)$$

Em que:

ε : porosidade do leito;

ρ_F : densidade do fluido ($M L^{-3}$);

ρ_s : densidade do sólido (matéria-prima) ($M L^{-3}$);

u : velocidade superficial do fluido ($L T^{-1}$);

t : tempo (T);

h : coordenada axial (L);

Y : razão entre massa de soluto e massa de solvente ($M M^{-1}$);

X : razão entre massa de soluto e massa de sólido inerte ($M M^{-1}$);

$J(X,Y)$: taxa de transferência de massa ($M L^{-3} T^{-1}$);

D_{AY} : coeficiente de dispersão na fase fluida ($L^2 T^{-1}$);

D_{AX} : coeficiente de dispersão na fase sólida ($L^2 T^{-1}$).

As Equações 3.3 e 3.4 servem como base para a aplicação de modelos específicos que, a partir de sua resolução, juntamente com a Equação 3.5, fornecem curvas com os perfis de massa de soluto extraído em função do tempo.

$$m(t) = \int_0^t Y(h = H, t) \dot{m}_F dt \quad (3.5)$$

Sendo:

$\dot{m}_F$: vazão mássica de fluido ($M T^{-1}$).

Na literatura, existem diversos modelos matemáticos de extração supercrítica em leito fixo que se baseiam na resolução de balanços de massa da fase sólida e fluida (LEE *et al.*, 1986; TAN & LIOU, 1989; REVERCHON *et al.* 1993; SOVOVÁ, 1994; FERREIRA, 1996; MEIRELES, 1999). Dentre estes, o modelo de SOVOVÁ (1994) é considerado um modelo geral para processos de extração supercrítica de óleos em matrizes vegetais e, portanto será descrito neste trabalho.

3.5.1 Modelo de Sovová (1994)

O modelo proposto baseia-se em balanços de massa que consideram o escoamento axial do solvente com velocidade superficial através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. O solvente está livre de soluto na entrada do leito e a temperatura e a pressão são mantidas constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são considerados homogêneos e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular.

O pré-tratamento da matriz vegetal, como a moagem, que tem por finalidade aumentar a superfície de contato entre o soluto e o solvente, faz com que parte das paredes celulares se rompa deixando o soluto exposto ao solvente.

Assim, a quantidade inicial de soluto no sólido (O) é dividida entre o soluto (P), que se concentra na superfície do sólido, e o soluto que se encontra no interior do sólido (K), de fácil e difícil acesso, respectivamente.

$$O = P + K \quad (3.6)$$

Em que:

P : a massa de soluto de fácil acesso na superfície do sólido (M);

K : a massa de soluto depositado no interior do sólido, de difícil acesso (M).

A massa de inerte (m_s) não se altera durante a extração e a concentração de soluto na fase sólida é relacionada como:

$$\frac{O}{m_s} = \frac{P}{m_s} + \frac{K}{m_s} = X_0 = X_p + X_K \quad (3.7)$$

Neste modelo, os balanços de massa do sólido e do solvente para um elemento do leito são representados, respectivamente, por:

$$-\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial X}{\partial t} = J(X,Y) \quad (3.8)$$

$$\rho_F\varepsilon\frac{\partial Y}{\partial t} + \rho_F u\frac{\partial Y}{\partial h} = J(X,Y) \quad (3.9)$$

Comparando as Equações 3.3 e 3.4 com as Equações 3.8 e 3.9, pode-se perceber que Sovová negligencia os termos de transferência de massa por dispersão, tanto na fase sólida quanto fluida. O autor considera ainda, que o primeiro termo da Equação 3.9 pode ser desprezado, porque todos estes fenômenos são desprezíveis quando comparados à transferência de massa por convecção. Desta forma, as equações de balanço de massa para as duas fases (sólido e solvente) são dadas por, respectivamente:

$$\frac{\partial X}{\partial t} = -\frac{J(X,Y)}{\rho_s(1-\varepsilon)} \quad (3.10)$$

$$u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X,Y)}{\rho_F} \quad (3.11)$$

Dependendo da localização do soluto no sólido, a taxa de transferência de massa $J(X,Y)$ é representada pelas Equações 3.12 e 3.13, sendo que, quando ocorre a extração do soluto nas superfícies das células X_p , a resistência à transferência de massa é a difusão no filme externo e, então, utiliza-se a Equação 3.12. Enquanto que, durante a extração do soluto do interior das células X_K , a resistência predominante para a transferência de massa é a difusão do óleo no interior do sólido, e, portanto, usa-se a Equação 3.13.

$$J(X > X_K, Y) = k_F a \rho_F (Y_S - Y) \quad (3.12)$$

$$J(X \leq X_K, Y) = k_S a \rho_S X \left(1 - \frac{Y}{Y_S}\right) \quad (3.13)$$

Onde:

Y_S : solubilidade do soluto no solvente ($M M^{-1}$);

$k_F a$: coeficiente de transferência de massa no filme externo (T^{-1});

$k_S a$: coeficiente de transferência de massa no sólido (T^{-1}).

E as condições iniciais e de contorno são, respectivamente:

$$X(h, t = 0) = X_0 \quad (3.14)$$

$$Y(h = 0, t) = 0 \quad (3.15)$$

Levando-se em conta todas as considerações do modelo, o processo de extração pode ser dividido em três etapas: na primeira, a resistência a transferência de massa é a difusão no filme externo, com taxa constante de extração – CER , em que o soluto é de fácil acesso (X_p); na última etapa, a taxa de extração é limitada pela difusão na fase sólida, estando o soluto no interior das células com difícil acesso (X_K); e na etapa intermediária estão presentes ambos os mecanismos de transferência de massa (etapa de taxa decrescente de extração – FER).

A resolução das Equações 3.10-3.15, do balanço de massa para as fases sólida e fluida, em conjunto com as Equações 3.16, 3.17 e 3.18 (que fornecem a massa extraída em função do tempo) resulta na curva cinética do modelo:

Para $t < t_{CER}$:

$$m(t) = \dot{m}_F Y_S t [1 - \exp(-Z)] \quad (3.16)$$

Para $t_{CER} \leq t \leq t_{FER}$:

$$m(t) = \dot{m}_F Y_S \left[t - t_{CER} \exp \left(\frac{ZY_S}{WX_0} \ln \left\{ \frac{1}{1-r} \left(\exp \left(\frac{W\dot{m}_F}{m_s} \right) (t_{CER} - t) - r \right) \right\} - Z \right) \right] \quad (3.17)$$

Para $t > t_{FER}$:

$$m(t) = m_s \left[X_0 - \frac{Y_S}{W} \ln \left\{ 1 + \left(\exp \left(\frac{WX_0}{Y_S} \right) - 1 \right) \exp \left(\frac{W\dot{m}_F}{m_s} \right) (t_{CER} - t) r \right\} \right] \quad (3.18)$$

Em que:

$$Z = \frac{k_F a m_s \rho_F}{\dot{m}_F \rho_S} \quad (3.19)$$

$$W = \frac{m_s k_S a}{\dot{m}_F (1 - \varepsilon)} \quad (3.20)$$

$$t_{CER} = \frac{(1 - r) m_s X_0}{Y_S Z \dot{m}_F} \quad (3.21)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{m_s}{W \dot{m}_F} \ln \left[r + (1 - r) \exp \left(\frac{W X_0}{Y_S} \right) \right] \quad (3.22)$$

Onde: $\dot{m}_F$ é a vazão mássica de solvente ($M T^{-1}$), t é o tempo de extração (T), X_0 é a concentração inicial do óleo na matriz sólida ($M M^{-1}$), m_s é a massa de sólido isenta de óleo (M), r é a fração de óleo facilmente acessível (X_p / X_0), t_{CER} é o tempo em que se esgota o soluto presente na superfície das células na parte inicial do leito (T), t_{FER} é o tempo em que se esgota o soluto presente na superfície das células na parte final do leito (T), Z e W são os parâmetros adimensionais do modelo.

3.6 Considerações Parciais

A revisão da literatura apresenta características do crambe (*Crambe abyssinica*), uma cultura relativamente nova no Brasil que vem se destacando devido ao seu elevado teor de óleo atrelado à elevada produtividade e rusticidade de plantio. No país, o maior interesse do crambe é para a produção do biodiesel, entretanto, o óleo de crambe, rico em ácido erúico também é aplicado em diferentes setores industriais.

A extração de óleos vegetais com fluidos pressurizados, notadamente o propano em condições subcríticas, apresenta-se como uma alternativa aos métodos usualmente utilizados, como prensagem e extração com solventes orgânicos. Além de elevados rendimentos, a técnica é considerada limpa, pois o solvente é removido do extrato pela despressurização do sistema, sendo possível a sua recuperação.

Dentro deste contexto, o presente trabalho visa avaliar a tecnologia com fluido pressurizado na extração do óleo de crambe, comparando rendimentos e qualidade do óleo aos obtidos pela aplicação do método convencional com os solventes hexano e diclorometano e, ainda, analisar a composição proteica do farelo bem como o potencial em compostos bioativos, como os fenólicos.

A literatura apresenta a aplicação do propano subcrítico em óleos vegetais, dentre ele, o crambe. No entanto, para esta oleaginosa não foram encontrados trabalhos que visassem o estudo das condições operacionais, com a utilização de planejamento experimental. O presente trabalho também se destina à caracterização do óleo obtido, visto que informações escassas foram encontradas sobre o mesmo, principalmente para o cultivar FMS Brilhante. Dessa forma, um estudo mais completo a respeito do óleo e do resíduo sólido após a extração (farelo) pode conduzir a novas aplicações deste valioso óleo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho, amostras de óleo de crambe, extraídas com propano subcrítico e com os solventes orgânicos hexano e diclorometano, foram caracterizadas quanto sua composição em ácidos graxos totais, compostos livres de glicerol e teor de compostos antioxidantes. Também foram realizadas análises de composição centesimal das sementes e farelo parcialmente desengordurado, bem como de compostos fenólicos. As metodologias utilizadas são descritas a seguir.

4.1 Materiais

4.1.1 Sementes de crambe (*Crambe abyssinica*)

As sementes de crambe (*Crambe abyssinica*) já secas naturalmente, da variedade FMS Brilhante (produzida pela Fundação MS), foram fornecidas pela Faculdade Assis Gurgacz – FAG, localizada no município de Cascavel – Pr.

4.1.2 Reagentes

Na extração do óleo de crambe foram utilizados os seguintes solventes: propano grau analítico com 95% de pureza (Linde Gás) na extração subcrítica; diclorometano 99,5% (Vetec) e *n*-hexano 99% (F.Maia) nas extrações convencionais em Soxhlet.

Nas análises de ácidos graxos totais foram utilizados os reagentes hidróxido de potássio PA, metanol PA (Vetec) e heptano (99,6% de pureza, Merck); e nas análises de ácidos graxos livres: o derivatizante N,O-bis(trimetilsilil)trifluoro-acetamida-BSTFA com trimetilclorosilano-TMCS (Sigma Aldrich), padrões de 5 α -colestano e heptadecanoato de metila, ambos da Sigma Aldrich, e como solvente o heptano (99,6% de pureza, Merck).

Para as análises de compostos antioxidantes foram utilizados: padrões α , γ e δ -tocoferol (Sigma Aldrich), isopropanol e metanol (J.T. Baker, grau HPLC), água ultrapura, ácido gálico anidro (Sigma Aldrich), reativo de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich), carbonato de sódio (Biotec), etanol (J.T. Baker) e ácido clorídrico (Vetec).

No método de quantificação de proteína foram utilizados os reagentes: ácido sulfúrico (Vetec), dióxido de titânio, sulfato de cobre e sulfato de potássio, todos anidro (Nuclear), hidróxido de potássio (Synth) e ácido clorídrico (Vetec).

Os gases utilizados nas análises cromatográficas foram: hélio (White Martins), hidrogênio (Linde Gás), nitrogênio (Linde Gás) e ar sintético (Linde Gás). Nas análises calorimétricas foram utilizados os gases: nitrogênio (White Martins) e oxigênio (Linde gás). Todos os gases com pureza acima de 99,99%.

4.2 Preparação das sementes para a extração do óleo

As sementes de crambe foram submetidas a uma leve trituração em liquidificador doméstico (Philips, RI 1710) para a quebra de suas cascas que, posteriormente foram separadas incidindo ar comprimido sobre o material. As sementes trituradas foram classificadas de acordo com a série padrão de peneiras Tyler de 12 a 32 mesh em agitador de peneiras, sendo utilizada nos experimentos a fração retida na peneira de 14 mesh, que correspondeu à fração com maior quantidade de massa. O material foi acondicionado em saco plástico, por aproximadamente quatro meses, até a sua utilização.

4.3 Extração do óleo

4.3.1 Extração convencional - Soxhlet

As extrações convencionais do óleo de crambe foram realizadas em conjunto Soxhlet (Laborglas). Aproximadamente 10 g de sementes foram

submetidas à extração por 480 minutos com os solventes orgânicos diclorometano e hexano. Estes solventes foram escolhidos devido às diferenças de polaridades, o hexano é considerado um solvente apolar, enquanto o diclorometano polar. Também foram realizadas extrações de 80 minutos para posterior comparação com o rendimento obtido na extração subcrítica. Os experimentos foram realizados em duplicata.

Ao final da extração, o solvente foi removido do óleo utilizando uma estufa à temperatura de ebulição dos solventes hexano e diclorometano, 69 e 40 °C, respectivamente. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar. Os cartuchos contendo as sementes foram colocados em estufa a 50 °C para evaporação do solvente e, posteriormente as sementes foram armazenadas em sacos plásticos.

4.3.2 Extração com propano subcrítico

Os experimentos para obtenção do óleo de crambe utilizando propano subcrítico foram realizados na unidade de extração supercrítica do Laboratório de Tecnologia Supercrítica da Universidade Estadual de Maringá – UEM. O Aparato constitui de um reservatório para o solvente, uma bomba seringa marca Isco, modelo 500D e dois banhos termostáticos - o primeiro (Julabo, modelo F25-ME) com a finalidade de resfriar o fluido na bomba seringa e o segundo (Quimis, modelo Q214M2) para manter o extrator aquecido nas temperaturas desejadas, e um extrator de aço inox com capacidade de aproximadamente 58 cm³ (diâmetro de 1,95 cm e altura de 19,4 cm), conforme Figura 4.1.

Em cada extração, aproximadamente 30 g de sementes foram utilizadas para carregar o extrator. Na bomba, o solvente resfriado foi pressurizado em intervalos de pressão de 10 bar até a pressão desejada e então bombeado para extrator, já estabilizado termicamente na temperatura de extração. Imediatamente à estabilização da pressão no extrator, a válvula de expansão foi aberta para uma vazão mássica de solvente de $1,6 \times 10^{-3} \text{ kg min}^{-1}$. Durante os 80 minutos de extração, o óleo foi coletado em frasco de vidro âmbar e sua massa pesada em intervalos de tempo predefinidos.

Para determinar a influência dos fatores principais, pressão e temperatura sobre o rendimento da extração foram testados três níveis das variáveis, como mostrado na Tabela 4.1, utilizando um planejamento fatorial 2^2 com triplicata do ponto central.

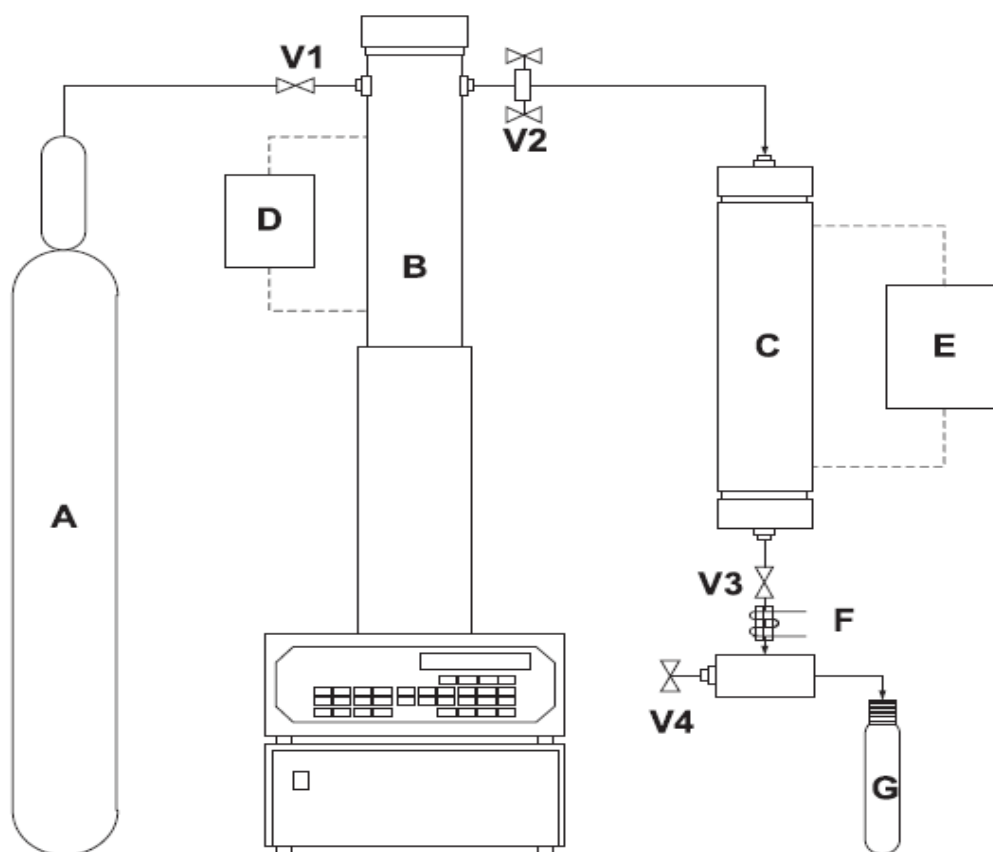


Figura 4.1 – Representação do módulo experimental de extração com propano subcrítico (Adaptado de SILVA *et al.*, 2014):

(A) cilindro de gás; (B) bomba seringa; (C) extrator; (D) e (E) banhos termostáticos; (F) controlador de temperatura na válvula micrométrica de expansão; (G) frasco coletor do óleo; (V1), (V2), (V3) e (V4) válvulas agulha.

Tabela 4.1 - Níveis de temperatura e pressão utilizados nos ensaios de extração do óleo de crambe.

Nível	Temperatura (°C)	Pressão (bar)
-1	40	80
0	60	120
+1	80	160

4.3.2.1 Solubilidade do óleo de crambe no propano subcrítico

A solubilidade do óleo de crambe no solvente subcrítico foi obtida através da curva cinética da extração. No início da extração, o solvente está saturado com a fração de óleo facilmente removível e, portanto, a concentração na saída é igual à concentração de equilíbrio. Desta forma, a solubilidade é determinada utilizando-se os dados da parte linear da curva de extração, conforme a Equação 4.1.

$$Y_s = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{solvente}}} \quad (4.1)$$

Onde:

Y_s : solubilidade do óleo no solvente ($M \cdot M^{-1}$);

$m_{\text{óleo}}$: massa total de óleo obtido apenas na parte inicial (linear) da curva de extração (M);

m_{solvente} : massa de solvente gasto apenas na parte inicial (linear) da curva de extração (M).

4.3.2.2 Caracterização do leito de partículas

4.3.2.2.1 Densidade do leito

A densidade do leito de partículas (ρ_{leito}) foi determinada a partir da Equação 4.2:

$$\rho_{\text{leito}} = \frac{m_s}{V_{\text{leito}}} \quad (4.2)$$

Em que:

m_s : massa de inerte, sendo esta a massa alimentada no extrator descontada a quantidade de óleo extraída (M);

V_{leito} : Volume do leito (L³).

4.3.2.2.2 Porosidade do leito

A porosidade do leito foi calculada utilizando a Equação 4.3:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{leito}}{\rho_s} \quad (4.3)$$

Onde:

ρ_{leito} : densidade do leito (M L⁻³);

ρ_s : densidade da semente (M L⁻³), determinada de acordo com seção 4.3.2.2.3.

4.3.2.2.3 Densidade real das sementes

A determinação da densidade das sementes de crambe, ρ_s , já descascadas e trituradas, foi realizada em picnômetro (Micromeritics®, modelo Accupyc 1330) utilizando gás hélio, no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração – LRAC da Faculdade de Engenharia Química, Unicamp. As condições utilizadas na análise são apresentadas na Tabela 4.2. O resultado final de densidade real foi obtido pela média de 10 determinações.

Tabela 4.2 – Condições utilizadas para determinação da densidade real por picnometria de gás hélio.

Massa de amostra (g)	4,63
Temperatura do ensaio (°C)	23,92
Número de purgas	20
Pressão de enchimento na purga (psig)	19,5
Pressão de enchimento na corrida (psig)	19,5
Taxa de equilíbrio (psig/min)	0,005

4.4 Modelagem matemática da cinética de extração com propano subcrítico

Foi utilizado o modelo matemático de SOVOVÁ (1994), descrito na seção 3.5.1, para a modelagem das curvas cinéticas de extração do óleo de crambe com propano subcrítico. O parâmetro r é constante devido o processo de preparação (moagem e peneiramento) ser o mesmo para todo o material e este foi ajustado aplicando o método “golden search”, com a seguinte função objetivo:

$$F = \sum_{i=1}^{n_exp} \sum_{j=1}^N (m_{oil,j}^{Calc} - m_{oil,j}^{Exp}) \quad (4.4)$$

Os parâmetros Z e W foram determinados com o emprego do método de otimização multivariável Simplex Down-Hill (Nelder and Mead, 1965) a partir da minimização da função objetivo dada pela Equação 4.5.

$$F = \sum_{j=1}^N (m_{oil,j}^{Calc} - m_{oil,j}^{Exp}) \quad (4.5)$$

Onde: $m_{oil,j}^{Calc}$ é a massa de óleo extraída obtida pelo modelo de Sovová; $m_{oil,j}^{Exp}$ é a massa de óleo obtida experimentalmente, n_exp é o número experimentos e N o número de pontos da curva cinética experimental.

4.5 Caracterização do óleo de crambe

As amostras de óleo de crambe foram caracterizadas quanto ao perfil de ácidos graxos totais, compostos livres de glicerol (ácidos graxos livres e fitosteróis) e tocoferóis (α , γ e δ). Todas as análises foram realizadas em duplicada, sendo expressas pela média $\pm$ desvio padrão.

4.5.1 Ácidos graxos totais

A análise dos ácidos graxos totais presentes no óleo de crambe foi realizada utilizando um cromatógrafo a gás Agilent 7890 equipado com uma coluna capilar (ZBWAX, 30m x 0,25mm x 0,25 μ m) programada a uma temperatura inicial de 120 °C, aumentando para 180 °C a uma taxa de 15 °C min⁻¹, e para 240 °C a 5 °C min⁻¹, permanecendo nesta temperatura durante 5 minutos. A vazão do gás de arraste foi de 1,5 mL min⁻¹. As análises foram realizadas com a temperatura do injetor a 250 °C e detector a 250 °C, utilizando um volume de injeção de 1 μ L, no modo split 1:50. Com a finalidade de determinar os ácidos graxos totais presentes nas amostras de óleo, foi realizada a derivatização do óleo com solução metanólica de KOH 2 mol L⁻¹ seguindo a metodologia padrão AOAC Ce 2-66 (1990). A identificação dos componentes presentes no óleo de crambe foi realizada por comparação dos dados do espectro com os apresentados na biblioteca Wiley.

4.5.2 Compostos livres de glicerol

Para esta análise, os compostos não ligados ao glicerol (ácidos graxos livres e fitosteróis) foram derivatizados com N,O-bis(trimetilsilil)trifluoro-acetamida (BSTFA) e trimetilclorosilano (TMCS), conforme FREITAS *et al.* (2008). Em aproximadamente 20 mg de óleo foram adicionados 20 μ L do derivatizante BSTFA/TMCS, 80 μ L do padrão interno para quantificação dos fitosteróis (5 α -colestano, 3470 mg L⁻¹) e 50 μ L do padrão interno para quantificação dos

ácidos graxos livres (heptadecanoato de metila, 5570 mg L⁻¹). A solução foi completada para o volume final de 1 mL com heptano e mantida a 60 °C durante 30 minutos.

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectro de massa, Thermo-Finnigan, pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa, COMCAP-UEM. Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna capilar Agilent HP-5MS (30 m x 0,250 mm x 0,25 µm) e as condições utilizadas foram: injeção de 0,4 µL no modo split 1:10, temperatura inicial da coluna de 100 °C, mantida nesta temperatura por 6 minutos, aumentando até 230 °C à taxa de 5 °C min⁻¹ e para 280 °C à 15 °C min⁻¹, permanecendo por 15 minutos. A vazão do gás de arraste, hélio, foi de 1 mL min⁻¹. O programa Xcalibur® (Thermo Electron) foi empregado para identificação dos compostos.

4.5.3 Tocoferóis (vitamina E)

Os tocoferóis α, γ e δ presentes no óleo de crambe foram analisados em cromatógrafo líquido de alta eficiência LC-20AT com detector UV-vis SPD-20A, ambos da marca Shimadzu. A coluna utilizado foi a C-18, modelo Shim-pack CLC-ODS (M) com 4,6mm x 25 cm e diâmetro de partícula de 5 µm. Utilizou-se um *loop* de 50 µL e o fluxo de fase móvel (mistura metanol:água 96:4) de 1 mL min⁻¹ no modo isocrático. O comprimento de onda utilizado para a detecção foi de 292 nm (FREITAS, 2007).

Aproximadamente 20 mg do óleo foram diluídos com isopropanol em balão de 1 mL antes de sua injeção no equipamento. Para a quantificação dos tocoferóis nas amostras foram construídas curvas padrão com concentrações de α, γ e δ variando de 0,5 a 5 mg L⁻¹ a partir de soluções estoques de aproximadamente 1000 mg L⁻¹ dos respectivos padrões. As curvas de calibração para o α, γ e δ-tocoferol são apresentadas nas Figuras 4.2, 4.3 e 4.4.

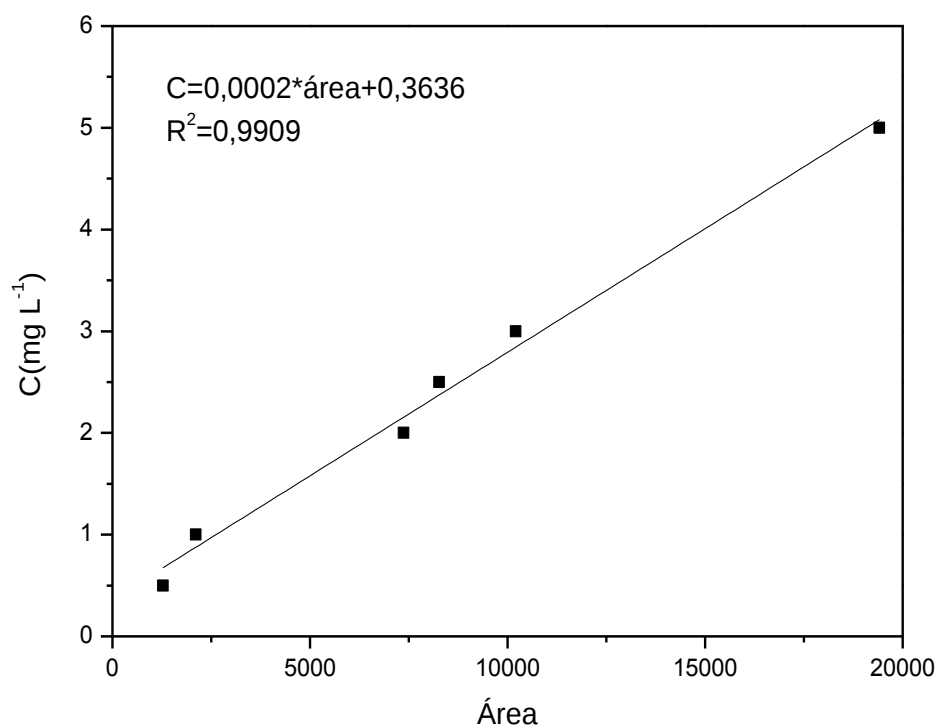


Figura 4.2 – Curva de calibração do α -tocoferol.

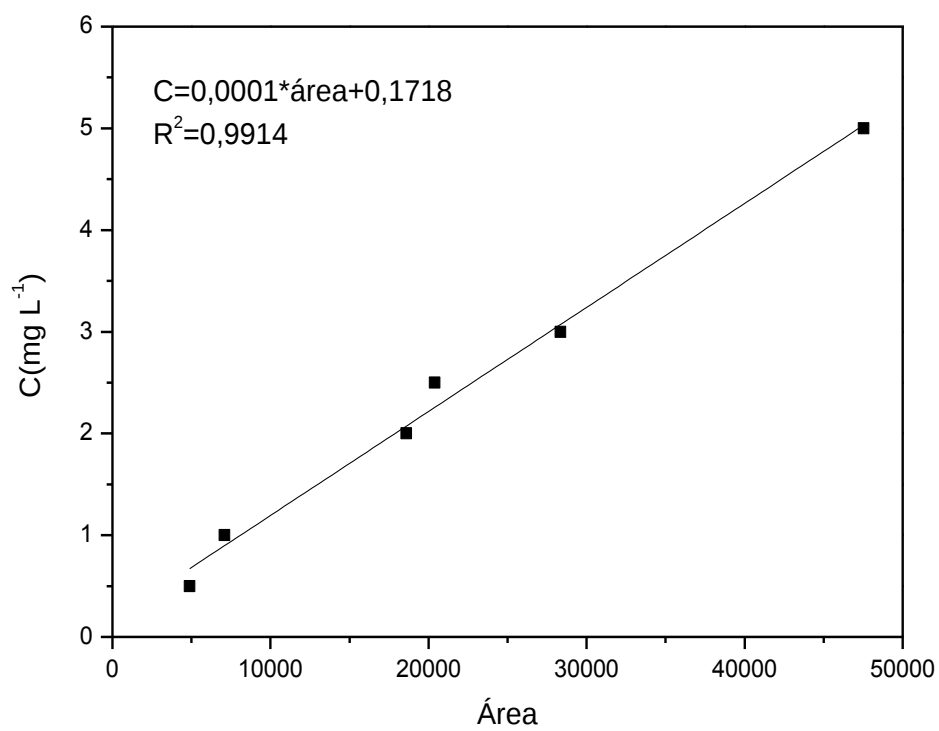


Figura 4.3 – Curva de calibração do γ -tocoferol.

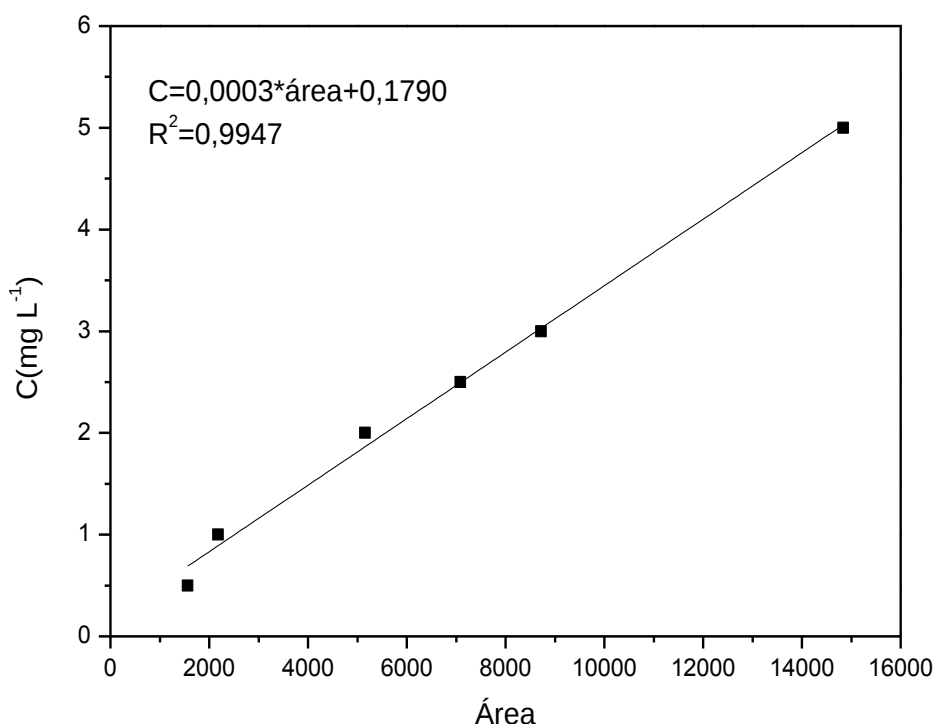


Figura 4.4 – Curva de calibração do δ -tocoferol.

4.6 Análises térmicas do óleo de crambe

As amostras de óleo de crambe extraídas com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar, hexano e diclorometano foram caracterizadas quanto à estabilidade oxidativa e ponto de fusão utilizando um calorímetro DSC Shimadzu – 60, previamente calibrado com o metal Índio (99,99% de pureza). Em ambas as análises foram utilizados cadinhos de alumínio de 6 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura (P/N 201-52943, Shimadzu).

4.6.1 Análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A estabilidade do óleo de crambe foi determinada pela técnica de calorimetria diferencial de varredura, que consiste na oxidação do óleo quando este é submetido a um fluxo constante de oxigênio. Foram pesados 2 mg de óleo

em cadinho de alumínio e este colocado sem tampa no compartimento de amostra do equipamento. Um cadinho vazio foi utilizado como referência. Segundo metodologia proposta por TAN *et al.* (2002), cada amostra foi submetida a quatro diferentes temperaturas (110, 120, 130 e 140 °C) com fluxo de oxigênio (99,99% de pureza) de 50 mL min⁻¹. O tempo de indução oxidativa (t_o) foi obtido da curva de oxidação, equivalente à interseção da linha de base e a tangente na borda da isoterma.

4.6.2 Determinação do ponto de fusão

Aproximadamente 1 mg de óleo de crambe foi pesado em cadinho de alumínio e colocado no calorímetro, juntamente com um cadinho vazio utilizado como referência. A amostra, submetida a um fluxo de nitrogênio de 50 mL min⁻¹, foi resfriada a -40 °C com a utilização de nitrogênio líquido e, então aquecida até 30 °C a uma taxa de 10 °C min⁻¹. As temperaturas referentes ao início, pico e fim da fusão, T_i , T_p e T_f , respectivamente, foram obtidas da curva de fusão. Variações endotérmicas no fluxo de calor correspondem a processos de fusão que foram quantificados quanto ao calor absorvido, utilizando o programa TA-60WS, Shimadzu.

4.7 Composição química das sementes e farelo parcialmente desengordurado

A composição centesimal das sementes de crambe trituradas e do farelo parcialmente desengordurado, obtido após a extração com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar, foi realizada de acordo com os métodos AOAC (2005), correspondentes à determinação de teor de umidade, cinzas e proteínas, respectivamente. As determinações foram realizadas em triplicata sendo expressas pela média e desvio.

4.7.1 Determinação do teor de umidade

A determinação da umidade das amostras foi realizada por meio do método gravimétrico que se baseia na perda de umidade e voláteis quando a amostra é submetida a 105 °C. Foram pesados aproximadamente 2 g de amostra em cápsula de alumínio e, esta colocada em estufa (SPLabor, modelo SP-100) a 105 °C por 3 horas, sendo posteriormente acondicionada em dessecador com sílica gel até atingir a temperatura ambiente e, posteriormente pesadas. O procedimento foi repetido até a massa ficar constante e o teor de umidade e voláteis calculado pela diferença entre a massa antes e após a secagem.

4.7.2 Teor de cinzas

O método determina o resíduo mineral remanescente após a calcinação da amostra. Para isso, 2 g de sementes e farelos foram submetidos a 550 °C por 6 horas em mufla. Após o resfriamento em dessecador, a amostra foi pesada e a porcentagem de cinzas dada pela diferença entre a massa inicial e final da amostra após a calcinação.

4.7.3 Proteína bruta

O conteúdo de proteína bruta nas sementes e farelo foi determinado de acordo com o método Micro-Kjeldahl, baseado no teor de nitrogênio total. Aproximadamente 0,3 gramas de amostra foram digeridos com ácido sulfúrico e mistura catalítica (dióxido de titânio, sulfato de cobre e sulfato de potássio na proporção 0,3:0,3:6) em chapa de aquecimento (Marconi, MA447) por cerca de 3 horas. O material digerido foi destilado em destilador de nitrogênio. A amônia foi recolhida e a solução de hidróxido de amônia formada foi titulada com ácido clorídrico (0,1 M) utilizando vermelho de metila como indicador do método. Para a quantificação foi utilizado o coeficiente de proteínas 6,25.

4.7.4 Cor

Para a análise de cor utilizou-se o colorímetro Minolta®. Os atributos de cor L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) foram determinadas pelo sistema de cor CIELAB.

4.8 Determinação de compostos fenólicos totais e flavonóides

As sementes cruas e os farelos obtidos após a extração do óleo com propano subcrítico e com solventes orgânicos foram caracterizado quanto ao teor de compostos fenólicos e flavonóides totais.

4.8.1 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi quantificado baseando-se na metodologia proposta por SINGLETON *et al.* (1999). Inicialmente realizou-se a extração dos compostos fenólicos de cada amostra solubilizando 0,1 g em 50 mL de água destilada. A mistura foi submetida às ondas de ultrassom (UltraCleaner 1400, Unique) durante 10 minutos e centrifugada a 6000 rpm. Foi retirada uma alíquota de 0,5 mL da solução e adicionada a 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu 10% que reagiu durante 5 minutos. Decorrido o tempo, 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 7,5% foram adicionados. A mistura foi deixada reagir por 2 horas, na ausência de luz e, posteriormente sua absorbância foi determinada em 740 nm (UV-Vis 1800, Shimadzu). O teor de fenólicos totais foi quantificado mediante a equação da reta da curva padrão de ácido gálico e expresso em mg de ácido gálico 100 g^{-1} de amostra.

Para a construção da curva de calibração utilizaram-se concentrações de ácido gálico de 0,0224 a 0,064 mg mL^{-1} e o mesmo procedimento citado anteriormente, sendo o extrato substituído pela solução de ácido gálico.

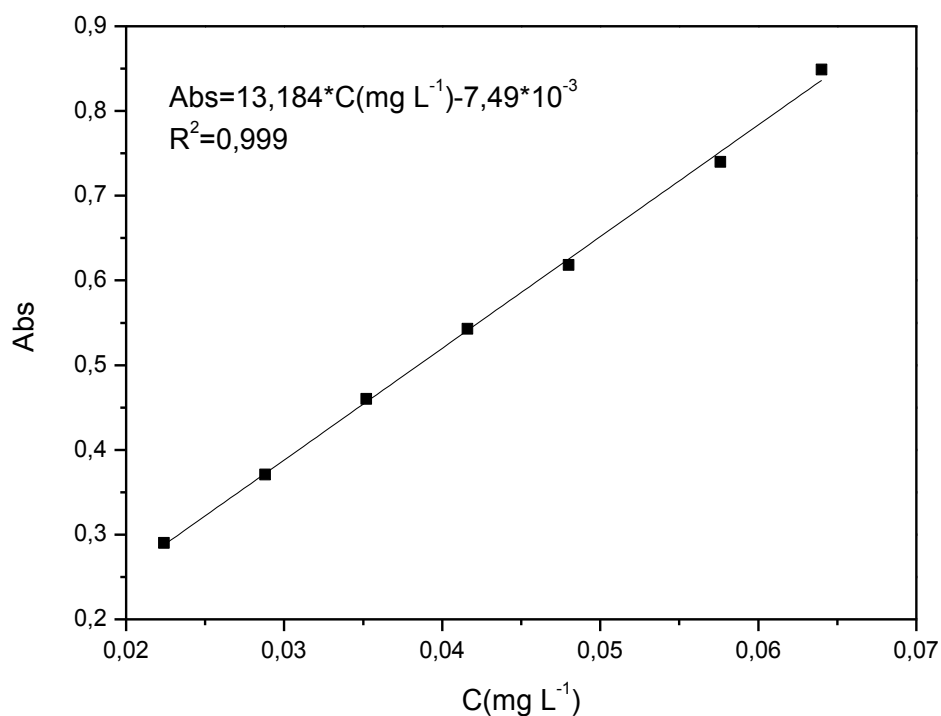


Figura 4.5 – Curva de calibração do ácido gálico.

4.8.2 Flavonóides totais

Os flavonóides presentes nas amostras de farelo de crambe, bem como nas sementes, foram quantificados segundo método de FRANCIS (1982). A 1,0 g de cada amostra foram adicionados 50 mL da solução extratora etanol-HCl 1,5 N e a mistura foi homogeneizada em agitador vórtex por 2 minutos e deixada em repouso por 24 horas ao abrigo de luz. O material foi filtrado e sua absorbância medida em 374 nm. Os resultados foram expressos em mg de flavonóides 100 g^{-1} de amostra utilizando 76,6 como fator de flavonóides.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Serão apresentados os resultados das extrações do óleo de crambe com propano subcrítico e com solventes orgânicos, bem como a modelagem matemática da cinética de extração subcrítica. Além disso, a caracterização do óleo quanto aos ácidos graxos totais, compostos livres de glicerol (ácidos graxos livres e fitosteróis) e teores de tocoferóis. Também, a composição centesimal das sementes e farelo e teores de compostos fenólicos.

5.1 Extração do óleo de crambe

5.1.1 Método convencional

A extração convencional foi realizada em extrator Soxhlet utilizando os solventes hexano e diclorometano em suas respectivas temperaturas de ebulição 69 e 40 °C. O óleo foi extraído durante 80 minutos para posterior comparação com o rendimento obtido pela extração com fluido subcrítico. Também, procedeu-se a extração de forma exaustiva em Soxhlet por 480 minutos para a completa remoção do óleo das sementes. As determinações foram realizadas em duplicada, sendo os resultados médios mostrados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Rendimento das extrações do óleo de crambe com os solventes orgânicos (hexano e diclorometano).

Solvente	Índice de Polaridade	Rendimento em 80 minutos (%)	Rendimento em 480 minutos (%)
Hexano	0	26,1 ± 0,54	47,5 ± 0,45
Diclorometano	3,1	29,0 ± 0,50	51,0 ± 0,33

As extrações comprovaram o elevado teor lipídico nas sementes de crambe, sendo observados rendimentos de 47,5% para a extração com hexano e 51% para o diclorometano. As diferenças encontradas se devem à polaridade do

solvente utilizado. O diclorometano é um solvente pouco polar capaz de extrair tanto os lipídios neutros quanto os polares (BRUM *et al.*, 2009).

A extração do óleo de crambe, na maioria dos trabalhos, é realizada após a quebra das sementes, sem a remoção das cascas. Tendo em vista que as cascas das sementes representam aproximadamente 22% da massa total das mesmas (PITOL *et al.*, 2010, RAUBER *et al.*, 2001), pode-se concluir que ONOREVOLI (2012) obteve em torno de 35% de rendimento em óleo utilizando hexano em Soxhlet por 5 horas de extração e ROSSETO *et al.* (2012) encontraram 48% de óleo para 6 horas de extração. No último trabalho, os autores empregaram sementes de crambe da mesma procedência que este trabalho e, como pode ser observado na Tabela 5.1, o teor de óleo encontrado em ambos os trabalhos foi aproximadamente o mesmo.

5.1.2 Extração com propano subcrítico

Foram avaliados os efeitos da temperatura e pressão do propano subcrítico no rendimento da extração do óleo de crambe utilizando um planejamento fatorial 2^2 . As condições utilizadas nos experimentos foram escolhidas a partir dos trabalhos de CORSO *et al.* (2010), PEDERSSETTI *et al.* (2011) e NIMET *et al.* (2011), que empregaram propano subcrítico na extração dos óleo de gergelim, canola e girassol, respectivamente.

Na Tabela 5.2 são apresentadas as condições experimentais das extrações, os rendimentos obtidos e a solubilidade (Y_s) do óleo no solvente, determinada pelo método dinâmico através do coeficiente angular da parte linear da curva de extração, descrito na seção 4.3.2.1. A maior quantidade de óleo (32,8%) foi obtida na condição de maior temperatura e pressão, 80 °C e 160 bar, respectivamente.

Em 80 minutos de extração total, são removidos de 51,6 a 64,3% do óleo contido nas sementes. Resultados semelhantes foram reportados por outros trabalhos de extração de óleo de sementes com fração lipídica semelhante ao crambe empregando propano subcrítico. PEDERSSETTI *et al.* (2011), obtiveram

eficiência de 48,9-64,4% em 85 minutos de extração do óleo das sementes de canola (*Brassica napus*), enquanto CORSO *et al.* (2010) extraíram de 57,3 a 72,1% do óleo das sementes de gergelim (*Sesamun indicum* L.).

Comparando os rendimentos obtidos ao final de 80 minutos de extração, observa-se que os mesmos foram próximos em ambas as técnicas aplicadas (propano subcrítico e Soxhlet). Entretanto, deve-se ressaltar que o tempo total gasto na metodologia em Soxhlet foi superior devido à necessidade da etapa de purificação para remoção do solvente, elevando ainda mais o gasto energético.

Tabela 5.2 – Condições experimentais das extrações com propano subcrítico e rendimentos obtidos ao final de 80 minutos.

Experimento	T (°C)	P (bar)	ρ_F^b (g cm ⁻³)	Y_S (g _{óleo} g _{solvente} ⁻¹)	Rendimento (%)
1	40	80	0,485	0,170	26,3
2	40	160	0,509	0,149	26,3
3	80	80	0,424	0,128	29,7
4	80	160	0,459	0,139	32,8
5	60	120	0,474	0,169	29,6 ^a ± 0,06

^aMédia da triplicata no ponto central ± desvio padrão.

^bNIST - National Institute of Standards and Technology.

Na Figura 5.1 estão apresentadas as curvas cinéticas experimentais de extração do óleo de crambe com propano subcrítico em diferentes condições de temperatura e pressão. O resultado da extração foi representado em porcentagem (razão entre massa de extrato e massa de amostra alimentada) para que as informações se tornassem independentes da quantidade de amostra utilizada na extração, embora a variação tenha sido de apenas 1,3%, possibilitando assim a comparação entre as diferentes condições empregadas.

De acordo com as curvas cinéticas da Figura 5.1, percebe-se que a temperatura apresenta efeito sobre o rendimento da extração, sendo que as maiores temperaturas proporcionaram maiores rendimentos em tempos menores. A avaliação dos efeitos da temperatura e pressão no rendimento da extração foi

realizada mediante análise estatística e os resultados expressos no item seguinte (5.1.2.1).

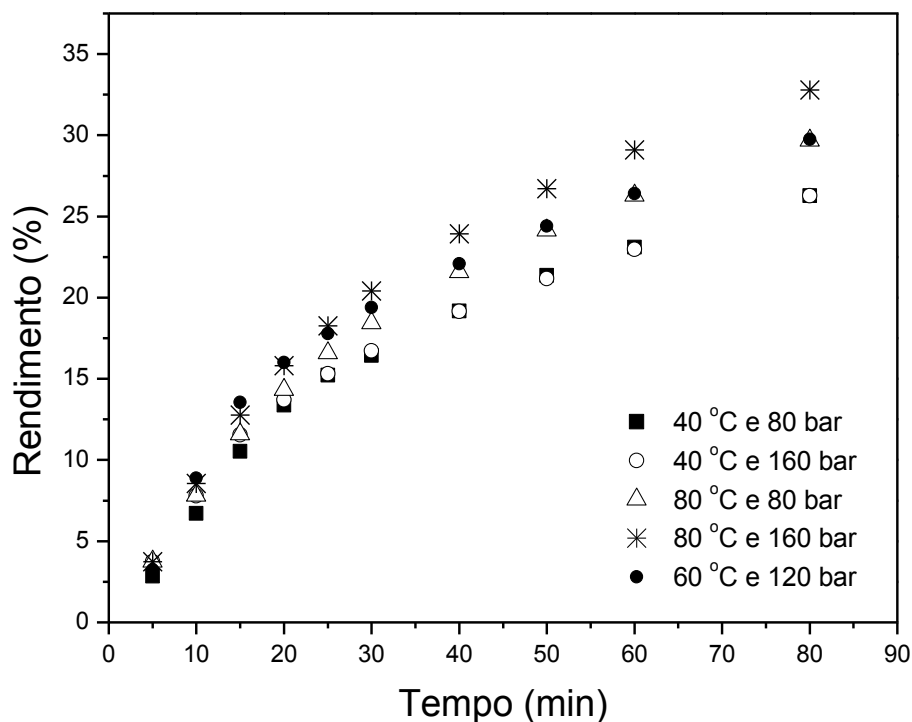


Figura 5.1 – Curvas cinéticas experimentais das extrações do óleo de crambe com propano subcrítico.

5.1.2.1 Análise estatística

Utilizou-se o programa computacional Statistica (V.8.0) da STATSOFT TM, Inc, para a análise estatística dos efeitos considerando o modelo linear e um intervalo de 95% de confiança. A Tabela 5.3 apresenta os efeitos das variáveis temperatura e pressão sobre o rendimento da extração.

Para as condições de temperatura e pressão utilizadas no planejamento fatorial a temperatura foi a única variável que teve efeito significativo (considerando um p-valor de 5 %), aumentando o valor desta variável aumenta-se o rendimento, como mostra a Tabela 5.3 e o gráfico de Pareto da Figura 5.2. A pressão não apresentou significância devido aos experimentos 1 e 2 (Tabela 5.2) apresentarem o mesmo rendimento duplicando o valor desta variável à

temperatura constante. Embora a pressão não apresente significância estatística para o nível de confiança empregado (95%), é observado um efeito positivo para esta variável ao se analisar os experimentos 3 e 4, justamente na maior temperatura empregada. Isso se deve à temperatura empregada estar mais próxima da temperatura crítica do propano, resultando na melhora do poder de solvatação do solvente devido ao aumento em sua densidade (JESUS *et al.*, 2013).

Efeito similar foi encontrado por PEDERSSETTI *et al.* (2011); NIMET *et al.* (2011) e CORSO *et al.* (2010), na extração com propano subcrítico dos óleos de canola, girassol e gergelim, respectivamente. Na extração do óleo de canola e girassol (que empregaram tempo fixo de extração), os autores relatam uma diminuição no rendimento para o aumento da pressão à temperatura mais baixa (30 °C). Entretanto, quando empregaram o aumento da pressão à temperatura de 60 °C, notaram uma elevação do rendimento, ressaltando o efeito citado anteriormente. Em todos esses trabalhos, a temperatura foi a variável predominante.

Os resultados obtidos sugerem uma competição entre o efeito da densidade e da pressão de vapor do soluto quando se eleva a temperatura da extração. Conforme os dados da Tabela 5.2, o aumento da temperatura ocasiona a redução na densidade do solvente, entretanto não se observa redução no rendimento da extração, como esperado. Isso se deve à presença de dois efeitos contrários: o aumento na temperatura aumenta a pressão de vapor do soluto e, conseqüentemente há o aumento da solubilidade; por outro lado a redução na densidade do solvente ocasiona a diminuição da solubilidade (MICHIELIN, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2007).

Esse efeito pode ser melhor visualizado comparando os experimentos 1 e 2 da Tabela 5.2. Com a elevação da pressão há o aumento da densidade do solvente, o que não acontece com a solubilidade. Entretanto, a diminuição da solubilidade não faz com que o rendimento seja inferior. Ou seja, neste caso pode-se constatar claramente a presença dos efeitos antagônicos citados anteriormente.

Para os experimentos 3 e 4, em que há aumento da pressão, nota-se que houve elevação da solubilidade e do rendimento em contraste ao baixo valor da densidade do solvente, o que indica a predominância do efeito pressão de vapor do soluto para os experimentos realizados à mais alta temperatura (80 °C).

Tabela 5.3 – Tabela de efeitos para as variáveis temperatura e pressão na extração do óleo de crambe utilizando propano subcrítico.

Variável	Média/intercepto	T	P	TxP
Efeito	29,100	4,950	1,550	1,550
p-valor ^a	0,000	0,025	0,193	0,193
Coeficiente	29,100	2,475	0,775	0,775
Erro padrão	0,328	0,401	0,401	0,401

^asignificância estatística $p < 0,05$.

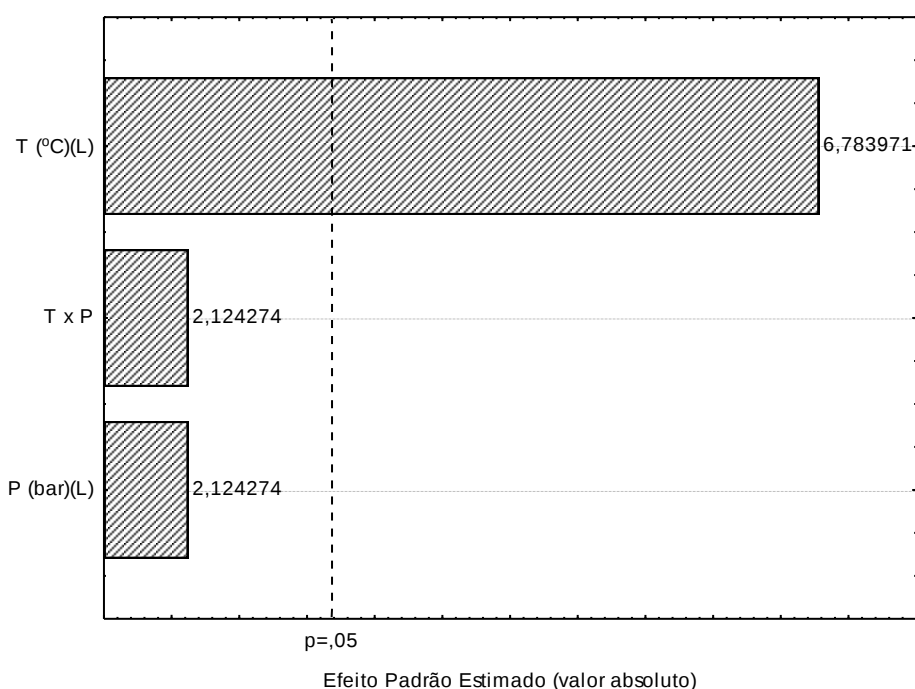


Figura 5.2 – Gráfico de Pareto de efeitos para as variáveis temperatura e pressão na extração do óleo de crambe utilizando propano subcrítico.

Na Figura 5.3 são apresentados os efeitos a partir de uma superfície de resposta, na qual é possível verificar a região ótima, com maior rendimento de extração do óleo.

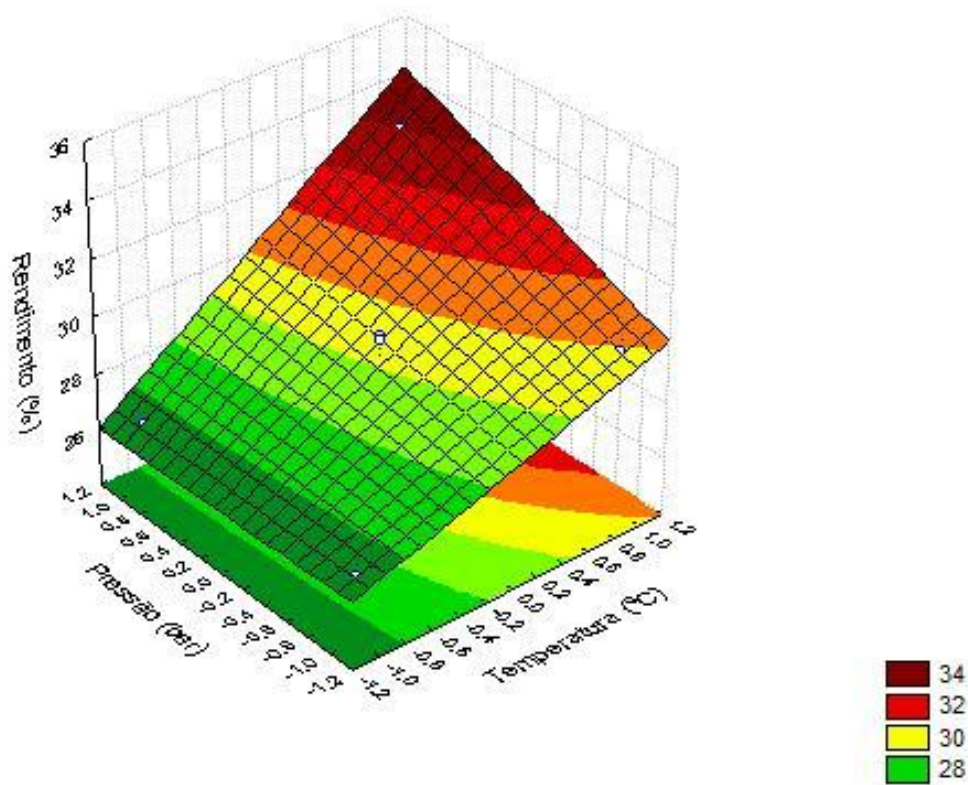


Figura 5.3 – Superfície de resposta.

A validade do modelo foi verificada pela análise do teste F, mediante dados da análise ANOVA. O modelo é validado, ou seja, se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais quando $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$. O modelo obtido pela regressão linear explica 95,7% das variações entre os valores experimentais e os previstos pelo mesmo, indicando uma boa concordância. A Tabela 5.4 mostra a análise da estatística “F” e o modelo é dado pela Equação 5.1.

$$\text{Rendimento}(\%) = 29,100 + 2,475 \times T + 0,775 \times P + 0,775 \times T \times P \quad (5.1)$$

Tabela 5.4 – Estatística “F”.

Causa de variação	Soma quadrática	GL	Média quadrática	F_{calc}	F_{tab}^a
Modelo	29,308	3	9,769	18,352	8,94
Resíduo	1,597	3	0,532		
Total SQ	30,905	6	5,151		
$R^2 = 0,957$					

^a $F_{\text{tab}}(6;3;0,05)$

O planejamento experimental utilizado neste trabalho se limita à simples identificação de variáveis que influenciam no processo e qual o efeito causado pelas mesmas. Assim, planejamentos mais completos, como o DCCR-delineamento composto central rotacional - devem ser utilizados quando se pretende obter as condições ótimas das variáveis.

5.1.3 Modelagem matemática da cinética de extração

A cinética de extração do óleo crambe utilizando propano subcrítico foi representada pelo de modelo de Sovová. Os parâmetros utilizados para a modelagem matemática da cinética de extração foram: concentração inicial de óleo de $0,488 \text{ g}_{\text{óleo}} \text{ g}_{\text{sólido}}^{-1}$ (dada pela razão entre a massa de óleo nas sementes e a massa de sólido inerte), densidade do sólido de $1,120 \text{ g cm}^{-3}$ (determinada por picnometria de gás hélio), densidade do leito de $0,343 \text{ g cm}^{-3}$, porosidade de 0,684, massa de material inerte de 19,9 g, vazão mássica de solvente de $1,6 \times 10^{-3} \text{ kg min}^{-1}$, densidade do solvente e solubilidade do óleo no solvente de acordo com a Tabela 5.2.

Os parâmetros ajustados do modelo de Sovová são apresentados na Tabela 5.5. O coeficiente de transferência de massa no filme externo, k_{Fa} , foi obtido usando o valor de Z e a Equação 3.19, enquanto que o coeficiente de transferência de massa no filme sólido, k_{sa} , empregando W e a Equação 3.20. O parâmetro r (fração de óleo presente na superfície das células) é constante, ou seja, considera-se a eficiência da moagem como sendo a mesma para todas as sementes devido à utilização da mesma granulometria nos experimentos.

De acordo com os dados da Tabela 5.5, o modelo de Sovová pode ser dividido em três períodos. O primeiro período (CER) é o mais rápido, entre 2,567 a 12,166 min, devido à elevada taxa de extração (k_{Fa} entre 0,111 a $0,788 \text{ min}^{-1}$) da fração de óleo exposta diretamente ao solvente (0,670).

Após o período CER , inicia-se o período FER . Nesta etapa, a fração de óleo disponível na superfície das células começa a se esgotar passando a ocorrer transferência de massa por difusão juntamente com a convecção. A etapa se

prolonga até 30,012 a 41,534 min e, a partir de então, inicia-se o terceiro período (*DCR*).

Tabela 5.5 – Parâmetros ajustados do modelo de Sovová para as extrações com propano subcrítico.

T (°C)	P (bar)	Z	W	r	t_{CER} (min)	t_{FER} (min)	k_{Fa} (min ⁻¹)	k_{Sa} (min ⁻¹)
40	80	2,146	0,297	0,670	12,166	41,534	0,111	$6,924 \times 10^{-3}$
40	160	4,312	0,246	0,670	6,276	36,550	0,235	$6,298 \times 10^{-3}$
80	80	11,875	0,401	0,670	2,620	39,948	0,788	$1,040 \times 10^{-2}$
80	160	8,769	0,583	0,670	3,206	38,200	0,549	$1,541 \times 10^{-2}$
60	120	9,303	0,365	0,670	2,567	30,012	0,546	$9,336 \times 10^{-3}$

No terceiro período não há mais óleo de fácil remoção por convecção, existindo somente a transferência de massa por difusão, ou seja, a extração do óleo depende da eficiência do solvente em acessar a parte interna dos grãos, na qual as paredes celulares ainda estão intactas. Devido à dificuldade em extrair esta parcela de óleo, considera-se o período *DCR* como etapa limitante da extração, sendo o rendimento final função da taxa de transferência de massa, que é baixa, k_{Sa} entre $6,298 \times 10^{-3}$ e $1,541 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

O maior valor de k_{Sa} foi obtido na condição de maior temperatura e pressão (80 °C e 160 bar), evidenciando o maior rendimento obtido neste experimento. Ainda, pode-se relacionar este parâmetro aos efeitos da temperatura e pressão citados na seção 5.1.2.1, sendo este maior quanto maior a temperatura empregada.

As curvas cinéticas experimentais de extração ajustadas com o modelo de Sovová são apresentadas na Figura 5.4. Como pode ser visto, o comportamento inicial das curvas é semelhante. Isso porque a quantidade de óleo disponível para a transferência de massa por convecção é constante (granulometria constante em todas as condições experimentais) e o solvente está saturado com o soluto facilmente removível. Entretanto, nota-se a separação das curvas após o primeiro

período de extração, mais pronunciada quando há elevação da temperatura de operação, o que se reflete diretamente no valor de k_{sa} e, conseqüentemente no rendimento final da extração.

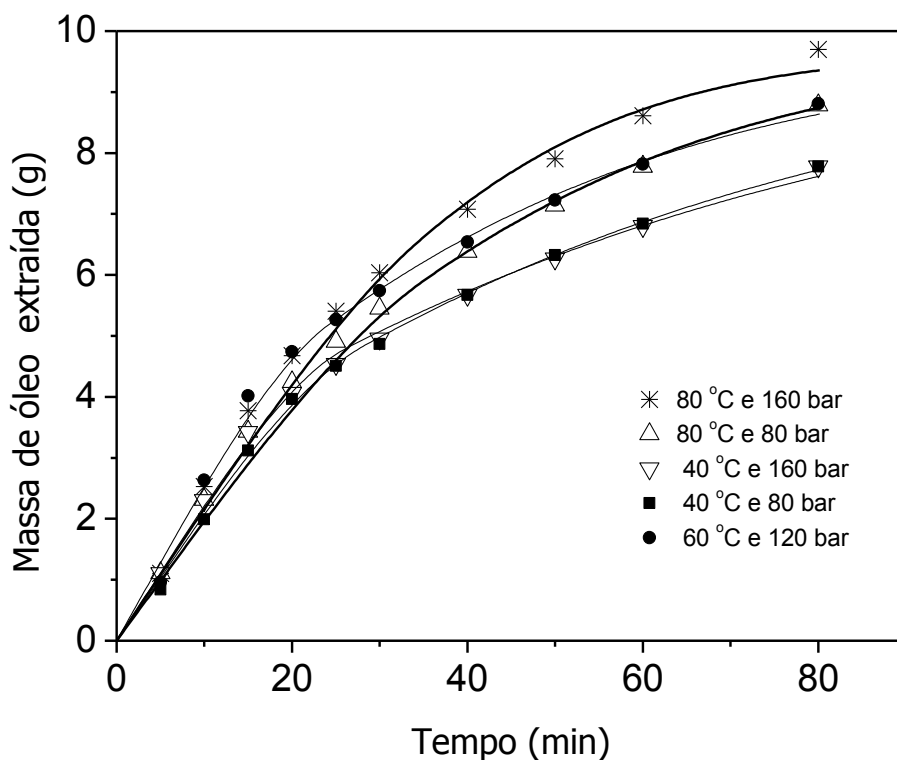


Figura 5.4 – Cinéticas experimentais de extração com ajuste do modelo de Sovová.

Os indicadores estatísticos da modelagem matemática (função objetivo, desvio médio absoluto – DMA e coeficiente de determinação – R^2) são apresentados na Tabela 5.6. O modelo de Sovová apresentou bom ajuste aos dados experimentais, com erro médio absoluto máximo de 5,704%.

Tabela 5.6 – Valores dos indicadores estatísticos.

T (°C)	P (bar)	Função objetivo	DMA (%)	R^2
40	80	0,1475	5,191	0,997
40	160	0,019	1,660	0,999
80	80	0,182	3,507	0,997
80	160	0,410	3,513	0,994
60	120	0,214	5,704	0,996

5.2 Análise dos ácidos graxos totais

Os teores de ácidos graxos das amostras de óleo de crambe obtidas sob diferentes condições de temperatura e pressão com o solvente propano subcrítico, bem como o óleo extraído de forma convencional com hexano (HEX) e diclorometano (DCM), estão apresentados na Tabela 5.7.

A análise mostrou que não houve diferenças significativas entre os resultados ao nível de significância de 5%, pois as distribuições de ácidos graxos foram semelhantes para as diferentes condições e solventes aplicados nas extrações, com exceção dos ácidos graxos palmitoléico e eicosadienóico.

Os ácidos graxos insaturados predominam na composição do óleo de crambe (LALAS *et al.*, 2012). Neste estudo, verificou-se que estes representam cerca de 94% do total de ácidos graxos presentes no óleo, sendo que o majoritário é o ácido erúcico (C22:1), chegando a 59,4%, seguido do ácido oleico (C18:1) com composição de até 20,17% e do linoleico (até 7,52%), em concordância com outros trabalhos reportados na literatura (SILVA *et al.*, 2009; BRÁS, 2011; SINGH & SINGH, 2010; FONSECA *et al.*, 2011; LALAS *et al.*, 2012)

Cerca de 81% dos ácidos graxos insaturados são monoinsaturados e os ácidos graxos saturados presentes no óleo somam aproximadamente 6%, sendo que o predominante é o ácido behênico (C22:0), com até 2% da composição total.

A distribuição (%) dos principais ácidos graxos insaturados do óleo de crambe, conforme a condição e o método de extração, é mostrada na Figura 5.5 e a distribuição dos ácidos graxos saturados, na Figura 5.6 (condições experimentais conforme Tabela 5.2).

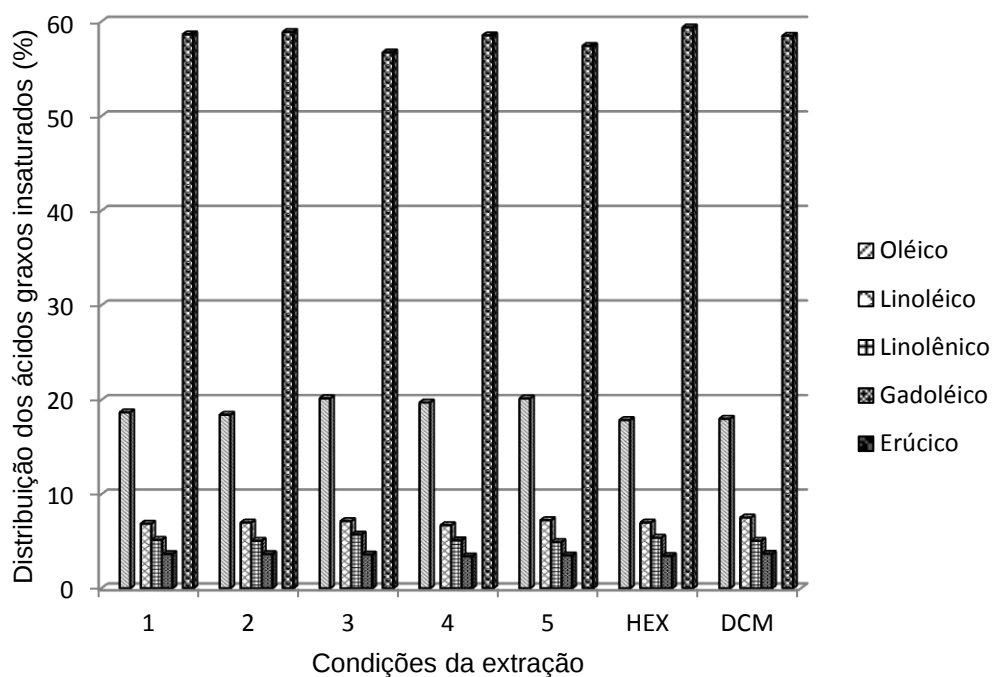


Figura 5.5 – Distribuição dos principais ácidos graxos insaturados no óleo de crambe obtidos de acordo com a condição empregada na extração.

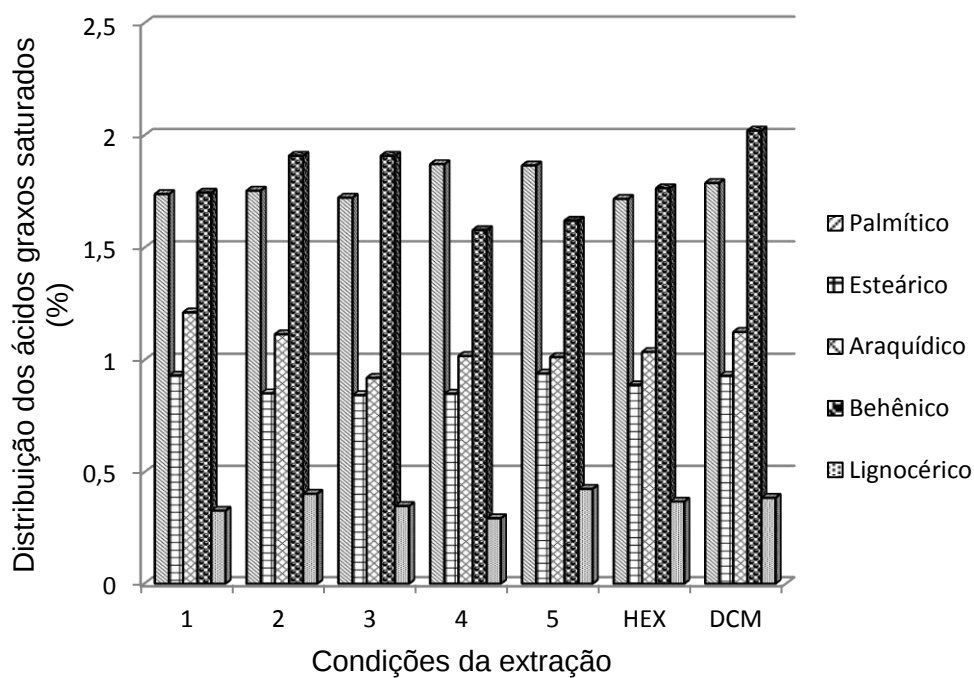


Figura 5.6 – Distribuição dos principais ácidos graxos saturados no óleo de crambe obtidos de acordo com a condição empregada na extração.

Tabela 5.7 – Composição em ácidos graxos totais (%) encontrada no óleo de crambe extraído sob diferentes condições experimentais (conforme Tabela 5.2).

Ácido	1	2	3	4	5	HEX	DCM
Palmítico	1,74 ± 0,17 ^a	1,75 ± 0,08 ^a	1,72 ± 0,08 ^a	1,87 ± 0,09 ^a	1,87 ± 0,13 ^a	1,72 ± 0,02 ^a	1,79 ± 0,05 ^a
Palmitoleico	0,06 ± 0,00 ^{cd}	0,08 ± 0,00 ^{abc}	0,06 ± 0,00 ^{bcd}	0,05 ± 0,01 ^d	0,08 ± 0,01 ^{abc}	0,08 ± 0,01 ^{ab}	0,10 ± 0,01 ^a
Esteárico	0,93 ± 0,09 ^a	0,85 ± 0,06 ^a	0,84 ± 0,11 ^a	0,85 ± 0,09 ^a	0,94 ± 0,10 ^a	0,89 ± 0,03 ^a	0,93 ± 0,00 ^a
Oleico	18,68 ± 1,55 ^a	18,43 ± 0,33 ^a	20,17 ± 1,82 ^a	19,72 ± 1,14 ^a	20,16 ± 0,96 ^a	17,87 ± 0,03 ^a	18,01 ± 0,27 ^a
cis-vacênico	0,24 ± 0,04 ^a	0,20 ± 0,10 ^a	0,16 ± 0,02 ^a	0,20 ± 0,03 ^a	0,23 ± 0,07 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,00 ^a
Linoleico	6,86 ± 0,60 ^a	6,99 ± 0,10 ^a	7,14 ± 0,34 ^a	6,71 ± 0,15 ^a	7,23 ± 0,24 ^a	6,99 ± 0,01 ^a	7,52 ± 0,22 ^a
Linolênico	5,14 ± 0,63 ^a	5,05 ± 0,01 ^a	5,71 ± 0,42 ^a	5,08 ± 0,05 ^a	4,92 ± 0,38 ^a	5,37 ± 0,30 ^a	5,05 ± 0,08 ^a
Araquídico	1,21 ± 0,04 ^a	1,12 ± 0,02 ^a	0,92 ± 0,12 ^a	1,02 ± 0,02 ^a	1,01 ± 0,12 ^a	1,04 ± 0,04 ^a	1,125 ± 0,04 ^a
Gadoleico	3,63 ± 0,00 ^a	3,63 ± 0,03 ^a	3,58 ± 0,34 ^a	3,38 ± 0,02 ^a	3,48 ± 0,05 ^a	3,44 ± 0,15 ^a	3,67 ± 0,01 ^a
Eicosadienóico	0,61 ± 0,03 ^{ab}	0,65 ± 0,04 ^{ab}	0,55 ± 0,04 ^{ab}	0,57 ± 0,04 ^{ab}	0,49 ± 0,08 ^b	0,64 ± 0,03 ^{ab}	0,74 ± 0,01 ^a
Behênico	1,75 ± 0,35 ^a	1,91 ± 0,02 ^a	1,91 ± 0,17 ^a	1,58 ± 0,18 ^a	1,62 ± 0,24 ^a	1,77 ± 0,19 ^a	2,02 ± 0,09 ^a
Erúcico	58,64 ± 2,63 ^a	58,89 ± 0,51 ^a	56,72 ± 3,43 ^a	58,53 ± 1,61 ^a	57,42 ± 1,18 ^a	59,38 ± 0,01 ^a	58,49 ± 0,33 ^a
Lignocérico	0,33 ± 0,07 ^a	0,40 ± 0,02 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	0,29 ± 0,08 ^a	0,43 ± 0,05 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,39 ± 0,06 ^a
nd*	0,19 ± 0,01 ^a	0,18 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,00 ^a	0,16 ± 0,04 ^a	0,18 ± 0,04 ^a	0,15 ± 0,08 ^a	0,21 ± 0,00 ^a
Insaturados	93,86 ± 0,11^a	93,90 ± 0,06^a	94,10 ± 0,49^a	94,23 ± 0,24^a	94,01 ± 0,27^a	94,03 ± 0,09^a	93,89 ± 0,22^a
Monoinsaturados	81,25 ± 1,09 ^a	81,21 ± 0,14 ^a	80,70 ± 1,29 ^a	81,88 ± 0,48 ^a	81,37 ± 0,26 ^a	81,03 ± 0,17 ^a	80,59 ± 0,07 ^a
Poliinsaturados	12,61 ± 1,20 ^a	12,69 ± 0,08 ^a	13,40 ± 0,80 ^a	12,35 ± 0,24 ^a	12,64 ± 0,53 ^a	13,00 ± 0,27 ^a	13,31 ± 0,15 ^a
Saturados	5,95 ± 0,12^a	6,03 ± 0,04^a	5,75 ± 0,50^a	5,61 ± 0,29^a	5,86 ± 0,18^a	5,77 ± 0,22^a	6,25 ± 0,13^a

* não determinados.

* letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

5.3 Compostos livres de glicerol: AGL e fitosteróis

Foram identificados os compostos não ligados ao glicerol, ácidos graxos livres (AGL) e fitosteróis, encontrados no óleo de crambe extraído com propano subcrítico e com solventes orgânicos hexano (HEX) e diclorometano (DCM). Estes estão apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 – Identificação dos compostos não ligados ao glicerol presentes no óleo de crambe.

Composto	Fórmula	Condições Experimentais						
		1	2	3	4	5	HEX	DCM
Ácido palmítico	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido linolênico	C ₂₁ H ₃₈ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido linoleico	C ₂₁ H ₄₀ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido oleico	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido esteárico	C ₂₁ H ₄₄ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido gadolêico	C ₂₃ H ₄₆ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido araquídico	C ₂₃ H ₄₈ O ₂ Si		X	X		X	X	X
Ácido erúcico	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	X	X	X	X	X	X	X
Ácido erúcico	C ₂₅ H ₅₀ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Ácido behênico	C ₂₅ H ₅₂ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Monolinoleína	C ₂₇ H ₅₄ O ₄ Si ₂	X	X	X	X		X	X
Ácido lignocérico	C ₂₇ H ₅₆ O ₂ Si	X			X			
Tocoferol	C ₃₁ H ₅₆ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Brassicasterol	C ₃₁ H ₅₄ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
Campesterol	C ₃₁ H ₅₆ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X
β-sitosterol	C ₃₂ H ₅₈ O ₂ Si	X	X	X	X	X	X	X

*Si: radical.

Os ácidos graxos livres são produzidos através de reações hidrolíticas, em que ocorre a quebra da ligação éster do triacilglicerol. Estas reações podem ser catalisadas pelas enzimas lipases ou pela ação de calor e umidade (OSAWA *et al.*, 2006) e contribuem para a aceleração do processo oxidativo dos óleos.

De acordo com a Tabela 5.8, pode-se verificar que a composição em ácidos graxos livres é semelhante para as diferentes condições de extração. A quantificação destes (Tabela 5.9) revelou diferenças significativas para as amostras de óleo extraído em diferentes condições, embora todas apresentem teores inferiores a 5%, indicando que estes óleos podem ser armazenados por longo período sem deterioração lipídica por ranço hidrolítico (GARCIA, 2012). Na extração com propano subcrítico, as maiores temperaturas de operação propiciaram maiores quantidades de AGL, devido à ação do calor nas reações hidrolíticas.

A presença do ácido erúico na forma não derivatizada deve-se à predominância deste composto no óleo de crambe e o processo de derivatização não ser eficiente o bastante para o mesmo. Entretanto, o fato não comprometeu a análise, visto que a fração não derivatizada também foi detectada.

Tabela 5.9 – Quantificação dos ácidos graxos livres (AGL) presentes no óleo de crambe.

Condição experimental	Teor de AGL (%) [*]
40 °C e 80 bar	1,26 ± 1,01x10 ^{-2b}
40 °C e 160 bar	1,16 ± 3,50x10 ^{-2b}
80 °C e 80 bar	1,62 ± 3,68x10 ^{-2a}
80 °C e 160 bar	1,70 ± 4,76x10 ^{-2a}
60 °C e 120 bar	1,24 ± 2,77x10 ^{-2b}
Hexano	1,19 ± 1,47x10 ^{-2b}
Diclorometano	1,71 ± 1,07x10 ^{-2a}

*letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

Também livres de glicerol, os fitosteróis são uma classe de esteróis presentes nas plantas que podem ser utilizados para identificação das mesmas. Dentre os mais de 200 tipos de fitosteróis encontrados (RUGGIERO *et al.*, 2013), alguns são específicos para certa família ou planta (GUL & AMAR, 2006; BENVENISTE, 2002). Esse é o caso do brassicasterol, encontrado nas espécies da família *Brassicaceae* em níveis de 5-20% (PHILLIPS *et al.*, 2002).

Embora existam diversos compostos existentes, os mais encontrados nas plantas são: β -sitosterol, campesterol e estigmasterol (AMAR *et al.*, 2007). Em relação à ação dos mesmos, os fitosteróis sitosterol e campesterol atuam como antioxidantes à peroxidação lipídica (YOSHIDA & NIKI, 2003), influenciando assim, na estabilidade oxidativa dos óleos.

Os fitosteróis foram quantificados no óleo de crambe mediante padronização interna, considerando a concentração e área do padrão utilizado. Na Tabela 5.10 estão apresentados os três fitosteróis (FIT) encontrados no óleo de crambe (brassicasterol, campesterol e β -sitosterol). Não foi possível detectar a presença do estigmasterol, devido sua composição nas plantas da família das crucíferas ser baixa (PHILLIPS *et al.*, 2002).

Tabela 5.10 – Quantificação de fitosteróis presentes no óleo de crambe (mg de FIT 100 g⁻¹ de óleo).

Condição experimental	Brassicasterol	Campesterol	β-sitosterol	Total*
40 °C e 80 bar	28,64 $\pm$ 0,21	51,40 $\pm$ 0,14	99,96 $\pm$ 0,31	180,00 $\pm$ 0,23^d
40 °C e 160 bar	25,97 $\pm$ 0,28	52,73 $\pm$ 0,76	106,15 $\pm$ 0,70	184,86 $\pm$ 0,34^c
80 °C e 80 bar	25,82 $\pm$ 0,37	53,82 $\pm$ 0,57	101,50 $\pm$ 0,98	181,14 $\pm$ 0,78^d
80 °C e 160 bar	26,83 $\pm$ 0,45	62,15 $\pm$ 0,21	112,06 $\pm$ 0,21	201,05 $\pm$ 0,45^a
60 °C e 120 bar	29,79 $\pm$ 0,89	58,24 $\pm$ 0,62	104,73 $\pm$ 0,22	192,76 $\pm$ 0,05^b
Hexano	23,42 $\pm$ 0,56	54,09 $\pm$ 0,54	103,28 $\pm$ 0,43	180,79 $\pm$ 0,41^d
Diclorometano	23,59 $\pm$ 0,32	55,05 $\pm$ 0,55	107,80 $\pm$ 0,55	186,44 $\pm$ 0,32^c

*letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

Diferenças significativas foram observadas na quantidade dos fitosteróis em relação à condição experimental de extração (Tabela 5.10). A quantidade individual de brassicasterol, campesterol e β -sitosterol se encontra entre 23,42-29,79, 51,40-62,15, 99,96-112,06 mg de FIT 100 g⁻¹ de óleo, respectivamente. A quantidade total de fitosterol foi de 180,00 a 201,05 mg de FIT 100 g⁻¹ de óleo. Os maiores teores foram encontrados na amostra de óleo extraído com propano a 80 °C e 160 bar. Segundo PHILLIPS *et al.* (2002), o conteúdo de fitosterol no óleo depende de vários fatores como a variedade/cultivar, condições de cultivo, armazenamento do grão pós-colheita e método de extração e condições de

armazenamento do óleo. Desta forma, pode-se atribuir às condições de extração do óleo os diferentes níveis de fitosteróis encontrados.

Os teores individuais de cada fitosterol no óleo de crambe encontrados neste trabalho (em média de 14% para o brassicasterol, 29,7% para o campesterol e 56,3% para o β -sitosterol) são semelhantes aos encontrados por LECHNER *et al.* (1999) e LALAS *et al.* (2012), levando-se em consideração os fatores citados acima. Os primeiros autores reportam os teores de brassicasterol, campesterol e β -sitosterol como sendo de aproximadamente 14,7, 25,5 e 53,6%, respectivamente. Os mesmos, ainda ressaltam que essa composição é semelhante ao óleo de canola (*Brassica napus*). Analogamente, o segundo trabalho apresenta teores de 12,35, 21,98 e 51,93%, respectivamente.

5.3.1 Análise dos tocoferóis (vitamina E)

Tocoferóis são os mais importantes antioxidantes presentes nos óleos vegetais (SCHMIDT & POKORNÝ, 2005). As quantificações dos tocoferóis (TOC) α , γ e δ para as diferentes condições experimentais de extração do óleo de crambe estão apresentadas na Tabela 5.11.

Tabela 5.11 – Quantificação dos tocoferóis (α , γ e δ) presentes no óleo de crambe (mg de TOC 100 g⁻¹ de óleo).

Condição experimental	α -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol	Total*
40 °C e 80 bar	3,04 $\pm$ 0,16	118,00 $\pm$ 0,36	37,38 $\pm$ 0,06	158,41 $\pm$ 0,58^e
40 °C e 160 bar	2,69 $\pm$ 0,021	132,32 $\pm$ 1,63	5,22 $\pm$ 0,004	140,23 $\pm$ 1,65^f
80 °C e 80 bar	3,09 $\pm$ 0,02	171,57 $\pm$ 0,34	27,52 $\pm$ 0,25	202,18 $\pm$ 0,11^a
80 °C e 160 bar	2,95 $\pm$ 0,05	146,54 $\pm$ 1,20	25,28 $\pm$ 0,31	174,81 $\pm$ 1,56^b
60 °C e 120 bar	3,43 $\pm$ 0,01	155,04 $\pm$ 0,88	11,06 $\pm$ 0,05	169,53 $\pm$ 0,82^c
Hexano	2,63 $\pm$ 0,01	138,59 $\pm$ 1,58	22,19 $\pm$ 0,11	163,41 $\pm$ 1,67^d
Diclorometano	3,48 $\pm$ 0,05	95,00 $\pm$ 0,17	3,97 $\pm$ 0,007	102,35 $\pm$ 0,21^g

*letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

Os resultados revelaram teores elevados de tocoferóis no óleo de crambe. A concentração total de vitamina E variou entre 102,35 a 202,18 mg de TOC 100 g⁻¹ de óleo e a amostra extraída com propano a 80 °C e 80 bar apresentou o maior teor total em contraste à amostra extraída convencionalmente com diclorometano. O óleo apresentou maior conteúdo de γ , seguido do δ e do α -tocoferol.

Embora os teores individuais de tocoferóis (α , γ e δ) não pudessem ser correlacionados com as condições de extração com propano subcrítico, pode-se perceber que a composição total apresenta influência da temperatura e pressão aplicada. A variável temperatura apresenta o maior efeito positivo enquanto a pressão parece exercer um efeito negativo, mas com menor intensidade. Ou seja, analisando os experimentos realizados à mesma pressão, o aumento da temperatura causa elevação dos teores de vitamina E. Entretanto, o aumento da pressão faz com que os teores diminuam, porém com menor intensidade. Desta forma, pode-se concluir que maiores temperaturas e menores pressões de extração fornecem óleos de crambe com maiores quantidades de tocoferóis.

Nas extrações convencionais com solventes orgânicos, o óleo provindo da extração com hexano revelou teor total de tocoferol próximo aos da extração subcrítica, notadamente da condição de 60 °C e 120 bar. Já o diclorometano não mostrou-se favorável na extração destes compostos, o que é explicável pela sua polaridade e à baixa temperatura aplicada na extração. Os tocoferóis são muito apolares (DAMODARAN *et al.*, 2008), enquanto diclorometano é um solvente polar o que dificulta a afinidade para a extração destes compostos.

Em relação à concentração de tocoferol total, o óleo de crambe obtido neste trabalho apresentou níveis excelentes de vitamina E, visto que LALAS *et al.* (2012) encontraram teores α , γ e δ -tocoferol de 0,767, 12,504 e 0,399 mg 100 g⁻¹, respectivamente, no óleo de *Crambe abyssinica* extraído com hexano.

5.4 Análise térmica do óleo de crambe

5.4.1 Estabilidade oxidativa

Dentre os tipos de oxidação lipídica, a autooxidação é o principal mecanismo de deterioração de óleo e gorduras e consiste na reação do oxigênio com as duplas ligações dos ácidos graxos com consequente formação de peróxidos. Devido o processo de oxidação lipídica ser exotérmico, a técnica de avaliação por calorimetria em DSC se torna adequada para este fim visto que a liberação de calor causa variação no sinal do equipamento sendo possível a detecção do início da oxidação.

Nesta análise, o calor liberado quando ocorre a oxidação da amostra é comparado ao calor que flui de um material inerte utilizado como referência (cadinho vazio), ambos igualmente aquecidos. A duração do tempo de indução, em que não acontece reação química e, portanto, não se verifica variação no sinal, é considerada uma medida da estabilidade do óleo. O início da oxidação é considerado assim que ocorre separação entre o sinal liberado pelo calor da amostra e a linha de base.

Nas Figuras 5.7, 5.8 e 5.9 estão apresentadas as curvas isotérmicas obtidas por calorimetria diferencial de varredura – DSC para as amostras de óleo de crambe a 110, 120, 130 e 140 °C. Foi selecionada a amostra de óleo na obtida condição de maior rendimento na extração com propano subcrítico (80 °C e 160 bar) e as amostras extraídas convencionalmente com hexano e diclorometano para realização desta análise. O tempo de indução oxidativa é verificado nos termogramas e identificado como t_0 .

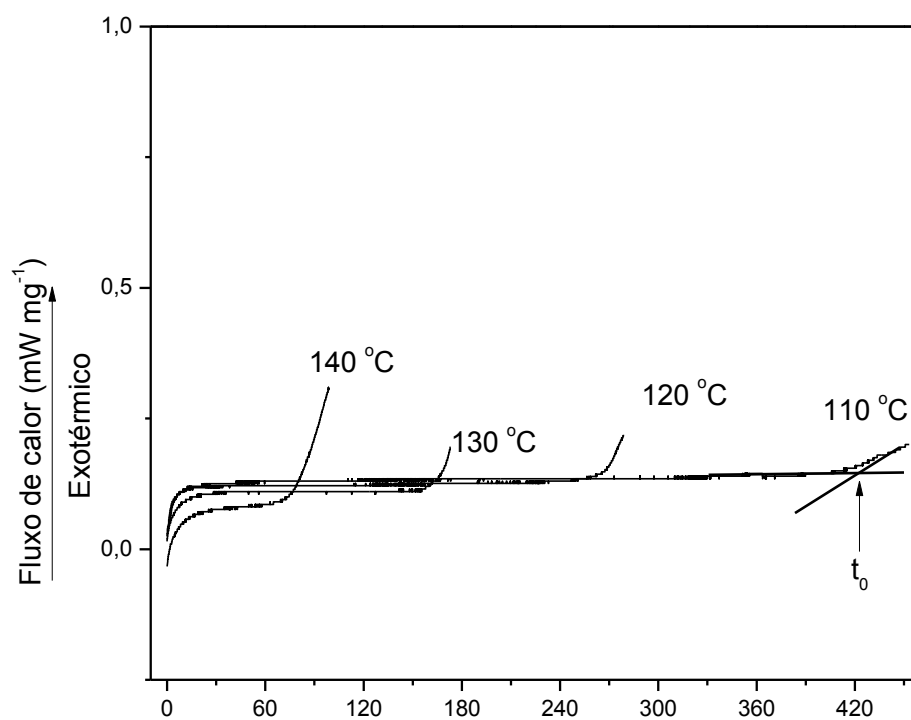


Figura 5.7 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crame extraído com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar submetido ao fluxo de O₂.

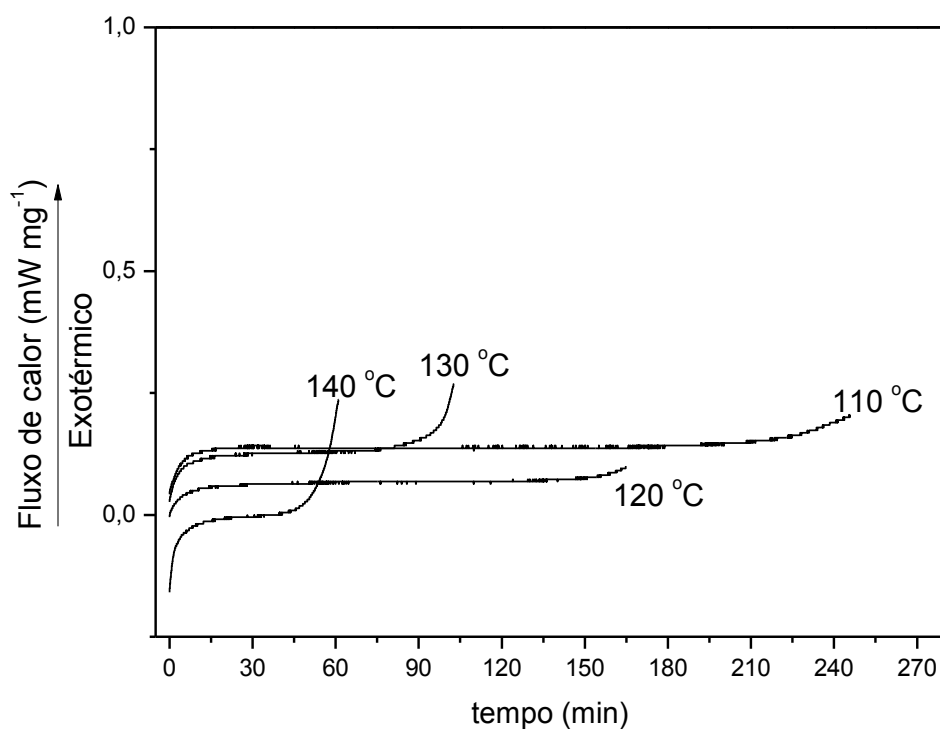


Figura 5.8 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crame extraído de forma convencional com hexano submetido ao fluxo de O₂.

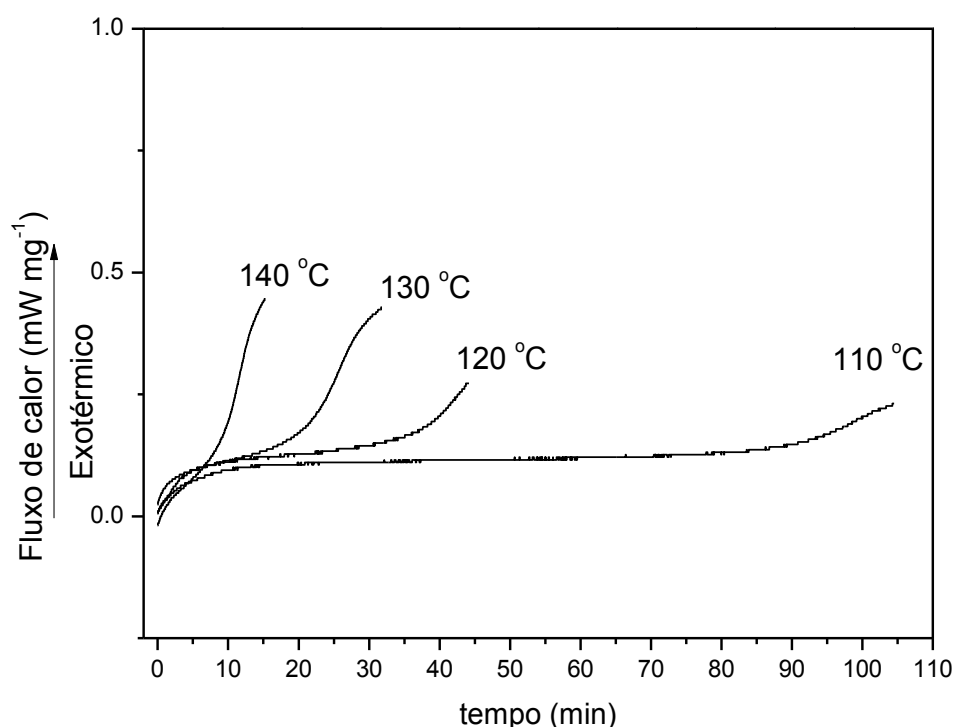


Figura 5.9 – Curvas de estabilidade oxidativa do óleo de crambe extraído de forma convencional com diclorometano submetido ao fluxo de O₂.

A Figura 5.10 mostra claramente que os picos exotérmicos das Figuras 5.7-5.9 são referentes à oxidação do óleo, pois quando a amostra de óleo extraída com hexano foi submetida ao fluxo de nitrogênio (50 mL min⁻¹) a 140 °C (curva A) não são observadas variações na isoterma, visto que o nitrogênio é um gás inerte na temperatura de trabalho.

Pelos termogramas observa-se que o óleo extraído com propano apresentou maiores tempos de indução oxidativa quando comparado às amostras extraídas com solvente orgânico. Na Tabela 5.12 constam os tempos de indução oxidativa (t_0), bem como as equações ajustadas da relação entre T e t_0 e seus coeficientes de determinação R^2 .

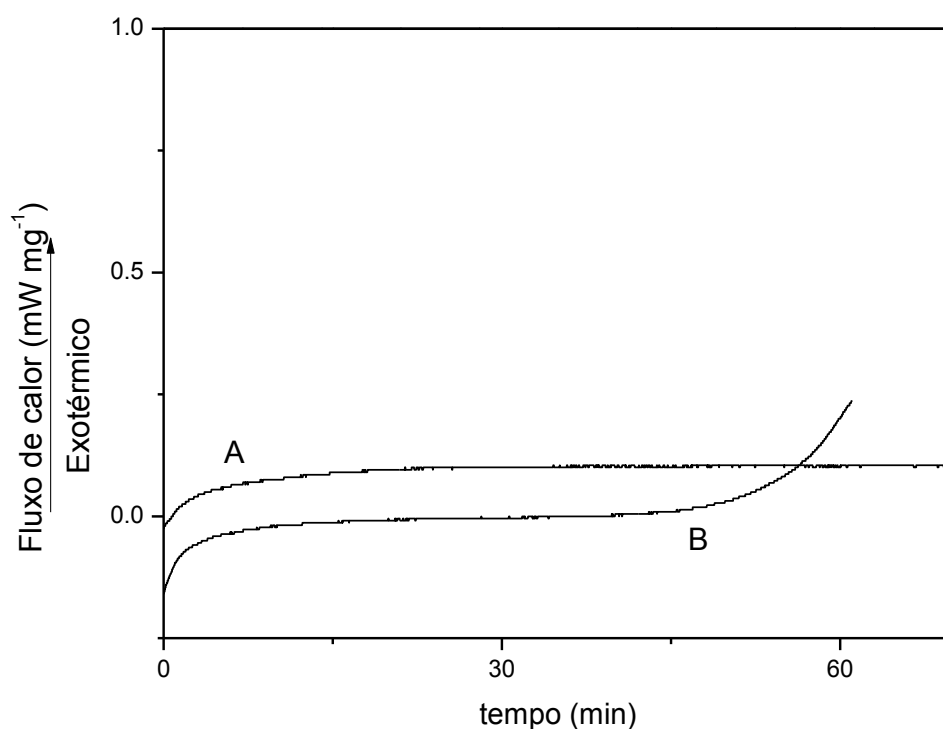


Figura 5.10 – Curvas de estabilidade oxidativa de amostras de óleo extraído com hexano submetidas a fluxos de nitrogênio (A) e oxigênio (B) a 140 °C.

Tabela 5.12 – Tempos de indução oxidativa do óleo de crambe.

Solvente	Condições de extração		t_0 (min)				Regressão	R^2
	P (bar)	T (°C)	110 °C	120 °C	130 °C	140 °C		
Propano	160	80	420,2	265,2	155,2	77,5	$T=217,86-40,70 \cdot \log_{10} t_0$	0,987
Hexano	-	-	225,3	152,95	90,4	53,5	$T=222,23-47,32 \cdot \log_{10} t_0$	0,993
Diclorometano	-	-	90,2	35,0	22,9	-	$T=172,06-32,14 \cdot \log_{10} t_0$	0,907

Os resultados obtidos mostram que as condições de extração e o tipo de solvente empregado influenciam na estabilidade oxidativa do óleo de crambe, sendo que as amostras analisadas apresentaram diferenças significativas quanto ao tempo de indução oxidativa. Maiores tempos de indução oxidativa foram verificados para a amostra extraída com propano a 80 °C e 160 bar. Já para as amostras extraídas convencionalmente com solventes orgânicos percebe-se que

o diclorometano apresenta oxidação mais rápida para todas as temperaturas avaliadas e, quando submetido a 140 °C já apresenta-se oxidado, não sendo possível avaliar o experimento nesta condição, como mostrado na Figura 5.9. De forma geral, a extração com propano subcrítico fornece um óleo de crambe mais estável à oxidação.

Os dados da Tabela 5.12 sugerem que a redução no tempo t_0 com o aumento da temperatura ocorre de forma similar à observada por TAN *et al.* (2002), ARAIN *et al.* (2009), PARDAUIL *et al.* (2011) em que o aumento de 10 °C na temperatura ocasiona a redução do tempo pela metade do observado no experimento anterior (relação entre temperatura e taxa de reação química). Assim, a relação linear entre temperatura e tempo de oxidação proposta por TAN *et al.* (2002) representou adequadamente os resultados obtidos neste trabalho, apresentando coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,9.

Embora o início da degradação do óleo pela técnica DSC dependa principalmente da composição do óleo, temperaturas empregadas e quantidade de óleo (SALDAÑA & MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, 2013), pode-se verificar pela comparação com outros trabalhos reportados na literatura que o óleo de crambe extraído com propano subcrítico apresenta excelente resistência à oxidação (420 minutos a 110 °C e 77,5 min a 140 °C). TAN *et al.* (2002) investigaram a estabilidade oxidativa dos óleos comerciais de canola, girassol, coco, milho, uva, gergelim, soja e amendoim e encontraram o maior tempo indutivo para o óleo de gergelim (542,70 min a 110 °C e 69,55 min a 140 °C). Entretanto, deve-se ressaltar que nos óleos comerciais são adicionados antioxidantes artificiais visando diminuir a autooxidação lipídica.

Similarmente, CORSO *et al.* (2010) avaliaram o tempo de indução oxidativa do óleo de gergelim bruto extraído com propano, encontrando 405 min a 110 °C e 62 min a 140 °C. Para o óleo de canola, pertencente à mesma família do crambe, extraído com propano subcrítico, PEDERSSETTI *et al.* (2011) encontraram 240 min de período indutivo a 110 °C e 75 min a 140 °C.

Óleos com maior grau de insaturações, notadamente os poliinsaturados são mais suscetíveis à oxidação (PARDAUIL *et al.*, 2011). Embora não se tenham verificado diferenças significativas (ao nível de 5%) para os teores de ácidos

graxos poliinsaturados nas amostras de óleo de crambe extraídos em diferentes condições (Tabela 5.7), deve-se levar em consideração que estes ácidos estão mais propensos à autooxidação, notadamente quando a concentração de antioxidantes naturais é baixa. A relação entre a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados e o teor de tocoferóis, leva-se à conclusão de que estes fatores estão intimamente ligados à estabilidade oxidativa do óleo de crambe.

Antioxidantes naturais, como os tocoferóis, agem na reação oxidativa, removendo ou inativando os radicais livres formados durante o início ou propagação da mesma, com consequente retardamento da oxidação (KAMAL-ELDIM, 2006; RAMALHO & JORGE, 2006).

5.4.2 Determinação do ponto de fusão do óleo

As amostras de óleo extraídas com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar e as extraídas com hexano e diclorometano foram caracterizadas quanto ao ponto de fusão. A análise foi realizada em calorímetro, sendo a amostra resfriada a -40 °C e aquecida à taxa de 10 °C min⁻¹ até a temperatura de 30 °C. Variações endotérmica no fluxo de calor liberado pela amostra são considerados processos de fusão, enquanto que variações exotérmicas representam cristalizações de estruturas polimórficas, características em óleos e gorduras. Nas Figuras 5.11, 5.12 e 5.13 são apresentados as curvas de aquecimento do óleo de crambe.

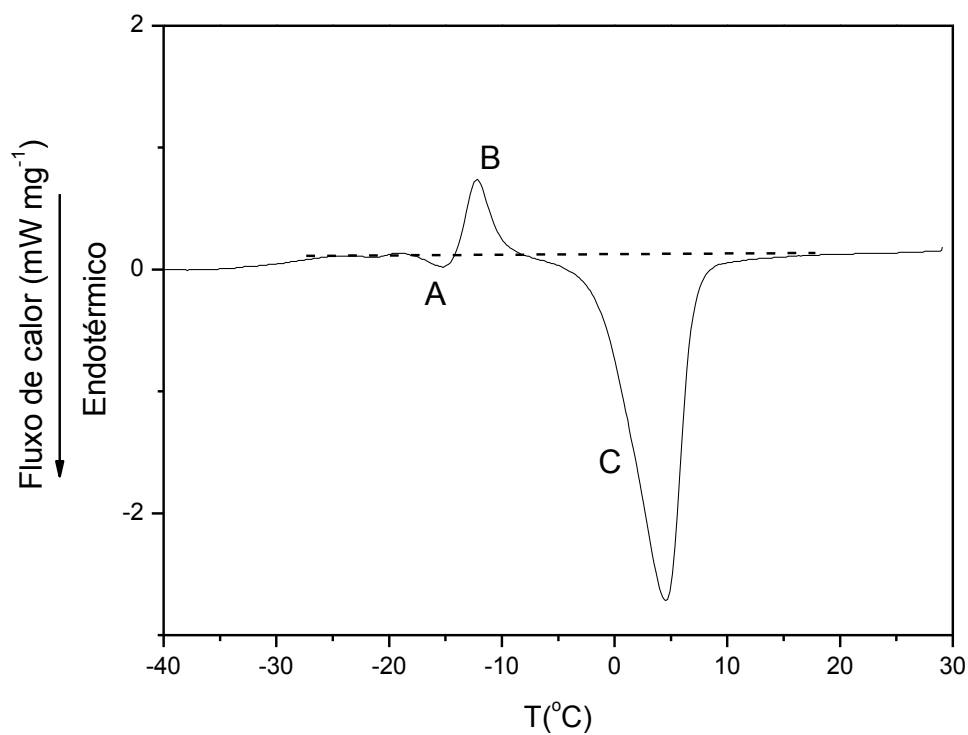


Figura 5.11 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído com propano subcrítico a 80 °C e 160 bar.

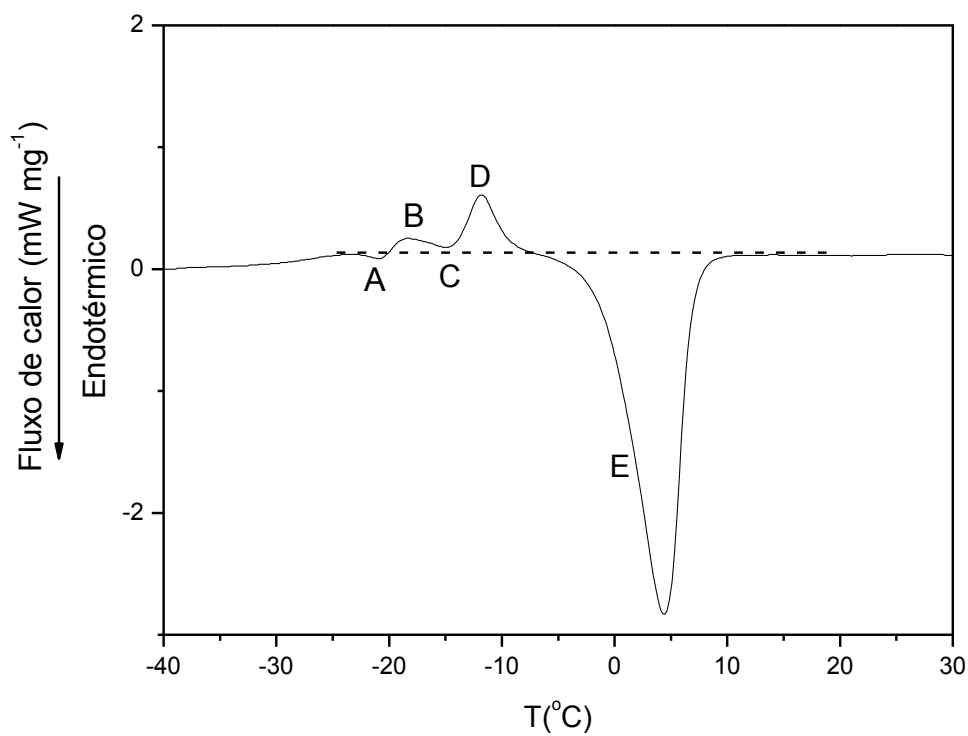


Figura 5.12 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído hexano.

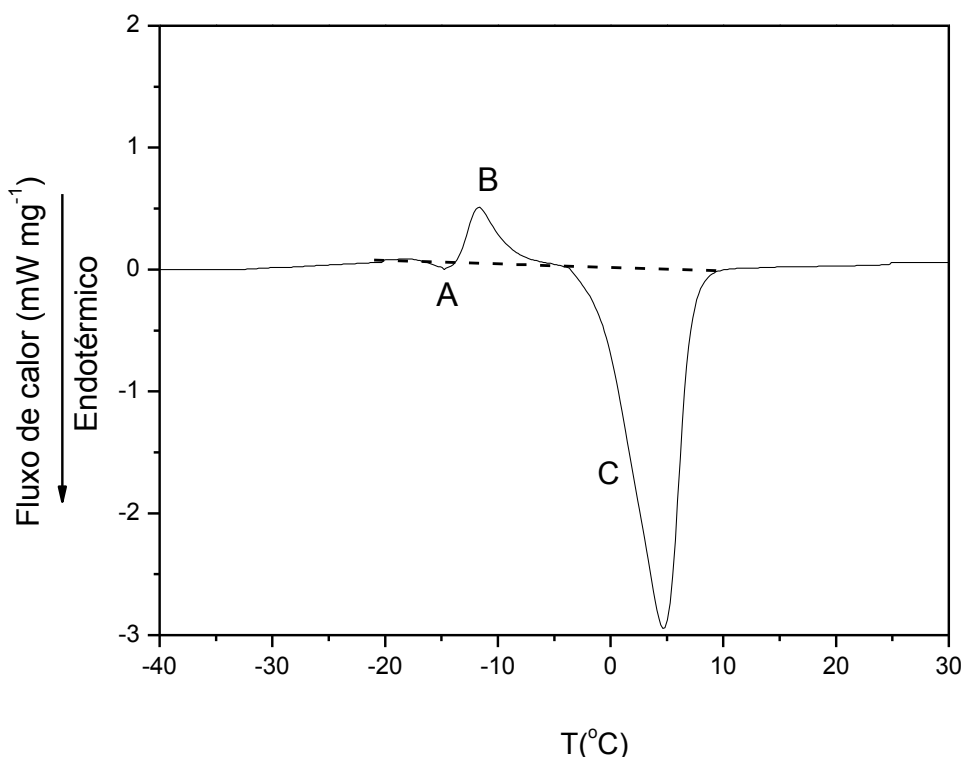


Figura 5.13 – Curvas de DSC para o aquecimento do óleo de crambe extraído com diclorometano.

Na amostra de óleo de crambe extraído com propano subcrítico (Figura 5.11), nota-se, primeiramente, um pico endotérmico (pico A, $T_i = -18,49\text{ }^{\circ}\text{C}$) seguido de um pico exotérmico (pico B, $T_i = -14,22\text{ }^{\circ}\text{C}$). Isso se deve ao fato de parte dos cristais formados durante o resfriamento da amostra ter derretido (pico A) e recristalizado novamente (pico B) em uma estrutura polimórfica mais estável (transição α para β). Como aumento da temperatura há fusão completa de todos os cristais (pico C, $T_i = -6,69\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_p = 4,51\text{ }^{\circ}\text{C}$) e na $T_f = 9,82\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o óleo está completamente derretido (entalpia de fusão de $-80,79\text{ J g}^{-1}$).

No óleo extraído com hexano (Figura 5.12) são verificados dois picos exotérmicos (B e D) subsequentes a dois picos endotérmicos (A e C). Neste caso, há fusão dos cristais α , seguida da recristalização na forma mais estável β' e posterior fusão dos mesmos. Finalmente, ocorre a cristalização na forma β , que é a mais estável com maior ponto de fusão e maior calor latente (SOUTO *et al.*, 2011). O aumento da temperatura ocasiona a fusão completa dos cristais (pico E,

$T_i = -6,53\text{ }^{\circ}\text{C}$) e em $T_f = 10,05\text{ }^{\circ}\text{C}$ o óleo está completamente na fase líquida. ($T_p = 4,45\text{ }^{\circ}\text{C}$, entalpia de fusão de $-82,83\text{ J g}^{-1}$).

Para o óleo extraído com diclorometano (Figura 5.13) há, inicialmente, o derretimento dos cristais α (pico A) e sua recristalização (pico B) na forma mais estável β . Na temperatura de $-3,58\text{ }^{\circ}\text{C}$ inicia-se a fusão completa do óleo, $T_p = 4,62\text{ }^{\circ}\text{C}$, e em $9,34\text{ }^{\circ}\text{C}$ o óleo funde-se totalmente. O calor de fusão desta amostra é de $-83,18\text{ J g}^{-1}$.

A taxa de resfriamento representa grande importância no tamanho, número e forma polimórfica de cristais (RODRIGUES-RACT *et al*, 2010). Diferentes taxas de resfriamento conduzem a formação de diferentes formas polimórficas. Desta forma, a ocorrência dos cristais intermediários (β') na amostra de óleo extraída com hexano pode ser explicada devido à velocidade de resfriamento da amostra não ser controlada pelo equipamento. Portanto, as amostras podem ter sido resfriadas a diferentes taxas, o que resultou na formação ou não dos diferentes cristais.

A diferença de calor de fusão entre as amostras deve-se à insaturação dos ácidos graxos (NASSU & GONÇALVES, 1994). Quanto mais saturado o óleo maiores a entalpia e a temperatura de fusão. Os maiores valores de calor e temperatura de fusão foram encontrados para o óleo extraído com diclorometano seguido das amostras extraídas com hexano e propano, o que está de acordo com a Tabela 5.7 que apresenta as porcentagens de ácidos graxos saturados.

5.5 Caracterização das sementes de crambe e do farelo parcialmente desengordurado

As sementes de crambe (*Crambe abyssinica*) passaram por uma etapa de descascamento e trituração antes de sua utilização nas extrações. Após a extração com propano subcrítico a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 160 bar, o farelo obtido e as sementes de crambe foram caracterizados quanto à sua composição centesimal e parâmetros de cor. Os resultados estão expressos na Tabela 5.13.

Tabela 5.13 – Características da matéria-prima e farelo parcialmente desengordurado.

Composição centesimal (g 100 g⁻¹)	Semente	Farelo
Umidade	4,06 ± 0,02	3,93 ± 0,05
Lipídios	51,00 ± 0,33	14,91± 3,05
Cinzas	3,18 ± 0,04	4,44 ± 0,09
Proteína bruta	20,13± 0,04	27,66± 0,08
Parâmetros de cor		
L [*]	55,30 ± 0,53	73,67 ± 0,58
a [*]	2,00 ± 0,14	0,76 ± 0,01
b [*]	43,38 ± 0,61	33,21 ± 0,39

As sementes de crambe cultivar FMS apresentaram elevado teor de lipídios (51%) e baixo teor de umidade (4%). A composição do crambe é semelhante para as oleaginosas da mesma família, como a canola e a mostarda. Resultados parecidos aos encontrados neste trabalho foram reportados por CARLSON & TOOKEY (1983), ERICKSON & BASSIN (1990) e RAUBER *et al.* (2001) que reportam teores médios de 47% de lipídios no óleo de crambe.

Neste trabalho, evidenciou-se o elevado teor de proteína tanto na semente quanto no farelo obtido após a extração parcial do óleo, aproximadamente 28%. SOUZA *et al.* (2009) analisaram a composição centesimal das sementes com casca e torta de crambe obtida por prensagem. Neste estudo, os autores encontraram 31,73% de proteína para a torta com aproximadamente 16% de lipídios. MIZUBUTI *et al.* (2011) obtiveram 29,17% de proteína para a torta com 24,90% de óleo remanescente.

Levando-se em consideração que a fração proteica é menor quando o grão é processado com casca e quando há presença de lipídio, conclui-se que a matéria-prima utilizada neste trabalho apresenta menor porcentagem de proteína que as empregadas pelos autores citados acima.

Em relação à análise de cor, o parâmetro L^{*} representa a luminosidade e sua escala varia de 0 (preto) a 100 (branco), ou seja, quanto mais próximo de seu

valor máximo mais branca é a amostra. O componente b^* varia de amarelo (+) para verde (-) e a coordenada de cromaticidade a^* de vermelho (+) para azul (-).

Comparando os resultados da Tabela 5.13 percebe-se que há diminuição de b^* com a retirada do óleo, o que já era esperado visto que o óleo confere esta cor à semente. Da mesma forma, o farelo parcialmente desengordurado apresenta coloração mais branca (L^*). A tonalidade vermelha (a^*) é praticamente reduzida à zero com a extração do óleo.

5.6 Determinação de compostos fenólicos

Resíduos de sementes após a extração do óleo, os farelos são considerados fontes promissoras de substâncias bioativas com atividades antioxidantes (MATTHAUS, 2002). Dentre estes, destacam-se os compostos fenólicos, responsáveis por contribuir para o escurecimento, sabor amargo e adstringência dos farelos (CVJETKO, 2009) e, portanto devem ser removidos dos mesmos.

Embora contribuam para a diminuição da qualidade dos farelos, os compostos fenólicos quando removidos dos mesmos podem ser utilizados como antioxidante natural em óleos e gorduras em substituição aos sintéticos para diminuir a rancificação (XUE *et al.*, 2009).

5.6.1 Compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais nas sementes e farelo de crambe foi expresso em termos de massa de ácido gálico (EAG). Os resultados para os farelos obtidos na extração com propano e com solvente orgânico estão distribuídos na Tabela 5.14.

Tabela 5.14 – Quantificação dos teores de fenólicos totais nas sementes e no farelo de crambe.

Condição experimental	Teor de fenólicos (mgEAG 100 g ⁻¹ de amostra)*
Sementes	336,97 ± 4,33 ^e
40 °C e 80 bar	354,04 ± 0,83 ^{d,e}
40 °C e 160 bar	366,48 ± 1,72 ^d
80 °C e 80 bar	432,99 ± 1,48 ^c
80 °C e 160 bar	475,68 ± 4,99 ^b
60 °C e 120 bar	423,22 ± 5,28 ^c
Hexano	488,95 ± 0,89 ^b
Diclorometano	542,63 ± 0,84 ^a

*letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

As amostras de farelo apresentam teores de fenólicos entre 354,04 e 542,63 mgEAG 100 g⁻¹ e o farelo obtido após a extração do óleo com diclorometano apresentou a maior quantidade de fenólicos. As amostras apresentaram diferenças significativas entre si, evidenciando a influência do processo de extração do óleo.

Analisando os dados das Tabelas 5.14, 5.1 e 5.2, percebe-se que as maiores quantidades de compostos fenólicos foram encontradas para os farelos com menor teor de óleo residual e a análise estatística mostrou não haver diferença significativa em termos de fenólicos para os farelos com quantidade similar de óleo. Efeito semelhante foi reportado por SEVERINO *et al.* (2013) na extração de compostos fenólicos da farinha de girassol. Os autores encontraram menores teores para os farelos com mais óleo. Isso pode ser atribuído a uma possível “proteção” causada pelo óleo que causa uma menor eficiência na extração dos fenólicos pela água, o que é evidenciado pelo menor teor de fenólicos encontrados para a amostra de sementes.

MATTHAUS (2002) avaliou a quantidade de compostos fenólicos no extrato de farelo de *Crambe abyssinica* obtidos com diferentes solventes de extração. O autor relata valores entre 260 e 1660 mgEAG 100 g⁻¹ farelo, sendo a maior quantidade obtida na extração dos fenólicos com água. Deve-se ressaltar que o mesmo aplicou uma extração exaustiva dos compostos fenólicos (o extrato final

se referiu à mistura dos extratos de três sucessivas extrações do farelo: a primeira em agitador orbital por 16 horas, seguida de duas extrações com o uso de ultrassom por 45 minutos cada), diferentemente deste trabalho no qual se aplicou uma simples extração em banho de ultrassom por 10 minutos. BUKHARI *et al.* (2013) reportam uma quantidade de 1060 mgEAG 100 g⁻¹ de fenólicos para a espécie *Crambe cordifolia*, em que a extração foi realizada por 2 semanas em solução de metanol.

Comparando os resultados obtidos com trabalhos que reportam o teor de fenólicos em farelos de oleaginosas da mesma família do crambe, foram encontrados valores semelhantes a este trabalho. CVJETKO *et al.* (2009) apresentam o teor de fenólicos de 330 mgEAG 100 g⁻¹ para o extrato de canola (*Brassica napus* L.) obtido da extração com solução de metanol. Para a mesma matéria-prima, OSKOUFIAN *et al.* (2011), relatam 530 mgEAG 100 g⁻¹. Para o farelo de mostarda (*Brassica nigra*), SREERAMULU & RAGHUNATH (2011) apresentam o valor de 725 mgEAG 100 g⁻¹.

A utilização do reagente Folin-Ciocalteu para a determinação de compostos fenólicos pode conduzir a resultados superestimados, visto que este reage com outras substâncias redutoras não fenólicas como os hidratos de carbono, aminas aromáticas e ácido ascórbico, sendo estes também quantificados como fenóis (HUANG *et al.*, 2005). Por isso faz-se necessário a quantificação de classes individuais destes compostos, dentre eles, os flavonóides.

5.6.2 Flavonóides totais

Na Tabela 5.15 são apresentados os teores médios de flavonóides nas sementes de crambe e nos farelos obtidos após as extrações com propano e com os solventes orgânicos hexano e diclorometano. Similarmente aos resultados de compostos fenólicos totais, as amostras de farelo extraídas com diclorometano e hexano apresentaram os maiores teores de flavonóides (71,63 mg 100 g⁻¹ e 59,11 mg 100 g⁻¹ de farelo, respectivamente). Os farelos obtidos da extração com propano subcrítico não apresentaram diferença significada quanto o teor de

flavonóides, exceto para a amostra extraída na condição de 40 °C e 160 bar, que apresentou valor próximo ao das sementes.

Tabela 5.15 – Quantificação dos teores de flavonóides totais nas sementes e no farelo de crambe.

Condição experimental	Teor de flavonóides (mg 100 g⁻¹ de amostra)*
Sementes	47,32 ± 0,64 ^c
40 °C e 80 bar	55,73 ± 0,54 ^b
40 °C e 160 bar	47,02 ± 0,55 ^c
80 °C e 80 bar	55,40 ± 0,51 ^b
80 °C e 160 bar	57,95 ± 0,87 ^b
60 °C e 120 bar	57,32 ± 0,67 ^b
Hexano	59,11 ± 0,12 ^b
Diclorometano	71,63 ± 0,30 ^a

*letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem entre si ao nível de 5%.

6 CONCLUSÕES

- As extrações realizadas com propano subcrítico proporcionaram elevado rendimento em 80 minutos, ressaltando que este solvente é favorável para obtenção do óleo vegetal. A melhor condição, ou seja, de maior rendimento em óleo (32,8%) foi a de maior pressão e temperatura (80 °C e 160 bar);
- A análise estatística mostrou que somente a temperatura exerce efeito sobre a variável resposta, apresentando efeito positivo, quanto maior a temperatura maior o rendimento. Embora a variável pressão não tenha sido significativa, deve-se levar em consideração que, para temperaturas mais elevadas, ou seja, mais próximas à temperatura crítica do solvente, a elevação da pressão conduz a maiores rendimentos e isso se deve à predominância do efeito da pressão de vapor do soluto;
- Os óleos obtidos pelos diferentes processos e condições de extração não revelaram diferenças significativas quanto ao perfil dos ácidos graxos totais, sendo predominantes no óleo o ácido erúcico, seguido do ácido oleico, linoleico e linolênico. Apresentaram teores de ácidos graxos livres inferiores a 2% e o β -sitosterol é o fitosterol predominante no crambe, sendo o brassicasterol também identificado;
- O óleo de crambe extraído com propano subcrítico apresentou teor mais elevado de vitamina E em relação aos óleos extraídos com hexano e diclorometano, sendo que este último apresentou a menor concentração;
- Nas análises de estabilidade oxidativa, o óleo extraído com propano subcrítico apresentou os maiores tempos de indução, fato relacionado à quantidade de ácidos graxos poliinsaturados e ao teor de tocoferóis. Quanto ao ponto de fusão, este varia em uma faixa de temperatura de aproximadamente -7 a 10 °C;
- O farelo obtido após a extração com propano apresentou elevado conteúdo proteico (aproximadamente 28%) e a análise de compostos fenólicos nas sementes e farelos parcialmente desengordurados revelou que os maiores teores destes compostos são obtidos das amostras com menor quantidade de óleo residual;

- O modelo matemático de Sovová ajustou-se adequadamente aos dados experimentais para a descrição das cinéticas de extração subcrítica em todas as condições empregadas.

7 ATIVIDADES FUTURAS

Para a complementação deste trabalho são apresentadas as seguintes sugestões:

- Avaliar outras variáveis na extração do óleo com propano subcrítico, como granulometria e vazão de solvente;
- Avaliar um planejamento completo na extração do óleo com propano subcrítico visando encontrar as condições ótimas das variáveis empregadas;
- Avaliar o dióxido de carbono supercrítico e a utilização de co-solventes na extração do óleo das sementes de crambe;
- Avaliar e identificar os compostos fenólicos presentes no óleo e farelo e otimizar as condições de extração dos compostos fenólicos do resíduo da extração;
- Determinar a capacidade calorífica do óleo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHANGARI, B.; SARGOLZAEI, J. **Extraction of Pomegranate Seed Oil Using Subcritical Propane and Supercritical Carbon Dioxide.** *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, v. 46, n. 3, p. 258–265, 2012.
- ALMEIDA, P. P. DE; FERREIRA, S. R. S. **Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil with pure CO₂ and CO₂ plus ethanol.** In: Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA). Foz do Iguaçu, Caderno de Resumos do PROSCIBA, 2007.
- ALMEIDA, P. P. **Extração de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.) com misturas de solventes a alta pressão.** Florianópolis, 2006. 114 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos).
- AMAR, S.; BECKER, H. C.; MÖLLERS, C. **Genetic variation and genotype x environment interactions for phytosterol content in rapeseed (*Brassica napus* L.).** In: Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress, v. 1, p. 340-342, 2007.
- ANTONIASSI, R. **Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras.** *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, v. 19, n. 2, p. 353-380, jul./dez. 2001.
- AOAC-Association of Official Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis.** 16th ed. Gaithersburg: AOAC, 2005.
- ARAIN, S.; SHERAZI, S. T. H.; BHANGER, M. I.; TALPUR, F. N.; MAHESAR, S. A. **Oxidative stability assessment of Bauhinia purpurea seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods.** *Thermochimica Acta*, v. 484, p. 1-3, 2009.
- ATABANI, A. E.; SILITONGAA, A. S.; ONGA, H. C.; MAHIAC, T. M. I.; MASJUKI, H. H.; BADRUDDINA, I. A.; FAYAZ, H. **Non-edible vegetable oils: A critical evaluation of oil extraction, fatty acid compositions, biodiesel production, characteristics, engine performance and emissions production.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 18, p. 211–245, 2013.

AUMAITRE, A.; BOURDON, D.; PEINIAU, J.; FREIRE, J.B. **Effect of graded levels of raw and processed rapeseed on feed digestibility and nutrient utilization in young pigs.** *Animal Feed Science and Technology*, v.24, p. 275–287, 1989.

BENVENISTE, P. **Sterol Metabolism.** *American Society of Plant Biologists, The Arabidopsis Book*, v.1, 2002.

BERDAHL, D. R.; NAHAS, R. I.; BARREN, J. P. **Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: current applications and future research.** In: DECKER, E. A.; ELIAS, R. J., et al (Ed.). **Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications.** Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, v.1. cap. Antioxidants in foods and beverages, p.408, 2010.

BONDIOLI, P.; FOLEGATTI, L.; LAZZERI, L.; PALMIERI, S. **Native *Crambe abyssinica* oil and its derivatives as renewable lubricants: an approach to improve its quality by chemical and biotechnological processes.** *Industrial Crops and Products*, v. 7, p. 231–238, 1998.

BOTTERWECK, A. A. M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHN, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. **Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study.** *Food and Chemical Toxicology*, v.38, p.599-605, 2000.

BRÁS, P. **Caracterização nutricional de coprodutos da extração de óleo em grãos vegetais em dietas de ovinos.** Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 2011. 74 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

BRAVI, M., BUBBICO, MANNA, R., VERDONE, F. N. **Process optimisation in sunflower oil extraction by supercritical CO₂.** *Chemical Engineering Science*, v.57, p. 2753-2764, 2002.

BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Extraction methods and quality of the lipid fraction of vegetable and animal samples.** *Química Nova* [online], v.32, n.4, p. 849-854, 2009.

BRUNNER, G. Gás Extraction. In: **Introduction to fundamentals of supercritical fluids and the applications to separation processes**. 1. ed. Darstadt, Alemanha: Steinkopff, 1994.

BUKHARI, S. M.; SIMIC, N.; LATIF H. S.; SIDDIQUI, H. L.; AHMAD, V. U. **Determination of Antioxidant Activity of Crambe Cordifolia**. *World Applied Sciences Journal*, v. 22, p. 1561-1565, 2013.

CARLSON, K.D.; TOOKEY, H.L. **Crambe meal as a protein source for feeds**. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 60, p.1979-1985, 1983.

CARLSSON, A. S. **Plant oils as feedstock alternatives to petroleum – A short survey of potential oil crop platforms**. *Biochimie*, v. 91, p. 665-670, 2009.

CARTEA, M. E.; FRANCISCO, M.; SOENGAS, P.; VELASCO, P. **Phenolic compounds in Brassica vegetables**. *Molecules*, v. 16, p. 251-280, 2010.

CASTLEMAN, G.; PYMER, S.; GREENWOOD, C. **Potential for Crambe (C. abyssinica) In Mallee/Wimmera of Australia**. In: 10th INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, Australia, 1999.

CHOE, E; MIN, D.B. **Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 46, p. 1-22, 2006.

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

CVJETKO, M.; LEPOJEVIĆ, Ž.; ZEKOVIĆ, Z.; VIDOVIĆ, S.; MILOŠEVIĆ, S. **Antioxidant properties of rapeseed**. In: VIII Simpozijum savremene tehnologije i privredni razvoj, p. 27-33, 2009.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. R. *Fennema's food chemistry*. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 1144 p.

DAS, M.M., SINGHAL, K.K. **Effect of feeding chemically treated mustard cake on growth, thyroid and liver function and carcass characteristics in kids**. *Small Ruminant Research*, v. 56, p. 31–38, 2005.

DESAI, B. B. **Seeds handbook: biology, production processing and storage**. 2 Ed., New York. Marcel Dekker 2004. 787 p.

DESAI, B. B.; KOTTECHA, P.M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds Handbook: biology, production processing and Storage**. New York: Marcel Dekker, 1997. 627 p.

DIAZ, T. G.; MERÁS, I. D.; CABANILLAS, A. G.; FRANCO, M. F. A. **Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples**. *Analytica Chimica Acta*, v. 511, p. 231-238, 2004.

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

DIEHL, L. **Extração e fracionamento de compostos com princípios ativos de própolis usando o dióxido de carbon supercrítico**. Universidade Estadual de Campinas, 2008. 248 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos).

DOBARGANES, M. C.; VELASCO, J. **Analysis of lipid hydroperoxides**. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.104, p. 420–428, 2002.

ERICKSON, D. B., BASSIN, P. **Rapeseed & crambe alternative crops with potential industrial uses**. Agricultural Experiment Station, Kansas State University, 1990. Disponível em: <<http://www.ksre.ksu.edu/library/crpsl2/sb656.pdf>>. Acesso em: 20 agosto 2013.

ERICKSON, M.C. **Lipid oxidation of muscle foods**. In: Akoh, C.C., and Min, D.B., Eds., *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekker, New York, 2002.

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. **The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants**. *Phytochemistry*, v. 56, p. 5–51, 2001.

FALASCA, S. L.; FLORES, N.; LAMAS, M. C.; CARBALLO, S. M.; ANSCHAU, A. **Crambe abyssinica: an almost unknown crop with a promissory future to**

produce biodiesel in Argentina. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 35, p. 5808–5812, 2010.

FALASCA, S.; FLORES, N. **Que es el crambe, para que sirve y que importancia puede tener para Argentina?** Argentina, 2006. Disponível em: <http://www.biodiesel.com.ar/download/Crambe_biodiesel.pdf>. Acesso em: 23 agosto 2013.

FERREIRA, F. M.; RAMOS, L. P.; NDIAYE, P. M.; CORAZZA, M. L. **Phase behavior of (CO₂+methanol+lauric acid) system.** *Journal Chemical Thermodynamics*, v. 43, p.1074–1082, 2011.

FERREIRA, S. R. S. **Cinética de Transferência de Massa na Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Pimenta do Reino.** Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996. 218 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos).

FERREIRA, S. R. S. **Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleo essencial de pimenta do reino.** 1991. 191 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos).

FONSECA, F. C.; BROTTTO, M. C.; VECHIATTO, W. W. D.; COSTA, B. J. ; ADÃO, D. C; ZAGONEL, G. F. ; LAURINDO, J. C. ; SUCHEK, E. M. **Biodiesel sazonal: a problemática do controle da qualidade** . In: 6º CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOENERGIA, 2011, Curitiba.

FRANCIS, F. J. **Analysis of anthocyanins.** In: MARKAKIS, P. (ed). **Anthocyanins as food colors.** New York: Academic Pres, p.181-207, 1982.

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

FREITAS, L. S.; OLIVEIRA, J. V.; DARIVA, C.; JACQUES, R. A.; CARAMÃO, E. B. **Extraction of Grape Seed Oil Using Compressed Carbon Dioxide and Propane: Extraction Yields and Characterization of Free Glycerol**

Compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 56, p. 2558–2564, 2008.

FUNDAÇÃO MS. **Crambe (*Crambe abyssinica*) – cultivar FMS Brilhante: uma boa alternativa para produção de biodiesel.** Boletim informativo, 2008.

GARCIA, V. A. S. **Extração do óleo de sementes de *Mucuna* utilizando dióxido de carbono supercrítico visando concentrar o farelo desengordurado em L-Dopa.** Universidade Estadual de Maringá, 123 p., 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

GARCÍA-RISCO, M.R.G.; VICENTE, G.; REGLERO, G.; FORNARI, T. **Fractionation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) by supercritical fluid extraction and chromatography.** *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 55, p. 949-954, 2011.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport processes and separations process principles.** 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2003.

GOFFMAN, F. D.; THIES, W; VELASCO, L.. **Chemotaxonomic value of tocopherols in Brassicaceae.** *Phytochemistry*, v. 50, n. 5, p. 793-798, 1999.

GOULARTE, S. R.; SOUZA, A. D. V.; ÍTAVO, L.C.V. **Parâmetros sanguíneos de cordeiros alimentados com dieta contendo diferentes níveis de farelo de crambe em substituição ao farelo de soja.** In: XX Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2010, Palmas. I Zootec na Amazônia legal - Sustentabilidade e Produção Animal. Palmas : UFTO, 2010.

GUL, M. K.; AMAR, S. **Sterols and the phytosterol content in oilseed rape (*Brassica napus* L.).** *Journal of Cell and Molecular Biology*, v. 5, p. 71-79, 2006.

GUSTONE, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 6 Volume Set. Chapter 6, 2005.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine.** 4. New York, NY: Oxford University Press, 2007.

HARTWIG, B.; KAMPF, D.; LEBZIEN, P. **Feeding value of crambe press cake and extracted meal as well as production responses of growing-finishing**

pigs and dairy cows fed these byproducts. *Archives of Animal Nutrition*, v. 59, p. 111-122, 2005.

HIERRO, M. T. G. **Temas avanzados de análisis químicas.** Madrid: Edinford S.A., 1994.

HUANG, D.; OU, B., PRIOR, R. L. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUANG, S., LIANG, M., LARDY, G., HUFF, H.E., KERLEY, M.S., HSIEH, F. **Extrusion process of rapeseed meal for reducing glucosinolates.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 56, p. 1–9, 1995.

HUANG, Z.; YANG, M. J.; LIU, S. F.; MA, Q. **Supercritical carbon dioxide extraction of Baizhu: Experiments and modeling.** *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 58, p. 31-39, 2011.

ILLÉS, V.; DAOOD, H. G.; PERNECZKI, S.; SZOKONYA, L.; Then, M. **Extraction of coriander seed oil by CO₂ and propane at super and subcritical conditions.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 17, p. 177-186, 2000.

JASPER, S. P. **Cultura do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst): avaliação energética, de custo de produção e produtividade em sistema de plantio direto.** Universidade Estadual Paulista, 103p., 2009. Tese (Doutorado em Agronomia).

JENSEN, R. G. **The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000.** *Journal of Dairy Science*, v. 85, p.295-300, 2002.

JENSEN, S.K., LIU, Y.G., EGGUM, B.O. **The effect of heat treatment on glucosinolates and nutritive value of rapeseed meal in rat.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 53, p. 17–28, 1995.

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

JOHNSON, R. G.; SELL, R. S. **“Commercialization and Competitiveness of Crambe Production in the United States.”** In 3th International Conference on New Industrial Crops and Products, Catamarca, Argentina, 1994.

KAMAL-ELDIN A.; POKORNÝ J. **Lipid oxidation products and methods used for their analysis.** In Kamal-Eldin A, Pokorny J, editors. Analysis of lipid oxidation, 2005, 293 p.

KAMAL-ELDIN, A. **Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 108, n. 12, p. 1051-1061, 2006.

KANNER, J.; GERMAN, J.B.; KINSELLA, J.E. **Initiation of lipid peroxidation in biological systems.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 25, p.319–364, 1987.

KING, J. W.; SRINIVAS, K.; ZHANG, D. **Advances in critical fluid processing.** In: *Alternatives to Conventional Food Processing*, A. Proctor (ed.), RSC Publishing, Cambridge, UK, p. 93–144, 2011.

KNIGHTS, S. E. **Crambe: a North Dakota case study.** Rural Industries Research and Development Corporation, 2002. Disponível em: <<http://www.rirdc.gov.au/reports/NPP/02-005.pdf>>. Acesso em: 22 agosto 2013.

LALAS, S.; GORTZI, O.; ATHANASIADIS, V. **Full Characterisation of *Crambe abyssinica* Hochst. Seed Oil.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 89, p. 2253 -2258, 2012.

LANÇAS, F. M. **Extração com fluido supercrítico: Quo Vadis?** *Revista Analytica*, p. 30-37, 2002.

LARA, A. C. C. **Seleção individual com teste de progênes em crambe (*Crambe Abyssinica* hochst).** Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita filho”, 60 p., 2013. Tese (Doutorado em Agronomia).

LAZZERI, L.; LEONI, O.; CONTE, L.; PALMIERI, S. **Some technological characteristics and potential uses of *Crambe abyssinica* products.** *Industrial Crops and Products*, v. 3, p. 103-112, 1994.

LECHNER, M.; REITER, B.; LORBEER, E. **Determination of free and esterified sterols in potential new oil seed crops by coupled on-line liquid chromatography-gas-chromatography.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 101, p. 171-177, 1999.

LEE, A. K. K.; BULLEY, N. R.; FATTORY, M.; MEISEN, A. **Modeling of supercritical carbon dioxide extraction of canola oil seed in fixed beds.** *Journal of American Oil Chemistry Society*, v. 63, n. 7, p. 921-925, 1986.

LEONARD, C., **Sources and commercial applications of high erucic vegetable oils.** *Lipid Technology*, v.4, p. 79–83, 1994.

LESSMAN, K. J.; BERRY, C. **Crambe and vernonia research results at the forage farm in 1966.** *Research Progress Report*, v. 284, p. 3, 1997.

LUDKE, H., SCHONE, F. **Copper and iodine in pig diets with high glucosinolate rapeseed meal. Part I. Performance and thyroid hormone status of growing pigs fed on a diet with rapeseed meal treated with copper sulphate solution or untreated and supplements of iodine, copper or a quinoxaline derivative.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 22, p. 33–43, 1988.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. **Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (citrus limon) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada.** *Química Nova*, v. 32, p. 946-949, 2009.

MAHANTA, P.; SHRIVASTAVA A. **Technology development of bio-diesel as an energy alternative;** 2004; Disponível em: <<http://www.newagepublishers.com/samplechapter/001305.pdf>>. Acesso em: 29 agosto 2013.

MAHESHWARI, P. N., STANLEY, D. W., VAN DE VAN, F. R. **Microwave treatment of dehulled rapeseed meal to inactivate myrosinase and its effect on oil meal quality.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 57, p. 194–199, 1980.

MARTÍNEZ, J. **Estudo de modelos de transferencia de massa na interface sólido-fluido durante processos de extração supercrítica.** Universidade

Estadual de Campinas, 140 p., 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos).

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, J. M. **Fitting the Sovová's supercritical fluid extraction model by means of global optimization tool.** *Computers and Chemical Engineering*, v. 32, p. 1735-1745, 2008.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. **Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide.** *Industrial Engineering of Chemistry Research*, v. 42, p. 1057-1063, 2003.

MASTEBROEK, H. D., WALLENBURG, S. C., VAN SOEST, L. J. M. **Variation for agronomic characteristics in Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst).** *Industrial Crops and Products*, v.2, p. 129–136, 1994.

MATTHAUS, B. **Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 12, p. 3444-3452, 2002.

MAUL, A. A., **Fluidos Supercríticos – Situação Atual e Futuro da Extração Supercrítica,** *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Ano II, n. 11. p.42-46, 1999.

MEIRELES, M. A. A., 1999. **Tecnologia supercrítica aplicada ao processamento de óleos essenciais, óleos vegetais, corantes, estevia, amido, celulose, etc.** Campinas, 1999, 65 p. Projeto Temático - FAPESP.

MICHIELIN, E. M. Z. **Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina de cavalinha (*Equisetum arvense*).** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 105 p., 2005. Dissertação (Mestrado).

MIKOLAJCZAK, K. L.; MIWA, T. K.; EARLE, F. R.; WOLFF, I. A., **Search for new industrial oils. V. Oils of cruciferae.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 38, p. 678–681, 1961.

MIZUBUTI, I, Y.; RIBEIRO, E. L. A.; PEREIRA, E. S. **Cinética de fermentação ruminal in vitro de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do**

biodiesel pela técnica de produção de gás. *Ciências Agrárias*, v. 32, p. 2021-2028, 2011.

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

MREMA, G. C.; MCNULTY, P. B. **Mathematical model of mechanical oil expression from oilseeds.** *Journal of Agricultural Engineering Research*, v. 31, p. 361 – 370, 1985 Apud SINGH, J., BARGALE, P.C. **Development of a small capacity double stage compression screw press for oil expression.** *Journal of Food Engineering*, v. 43, p. 75-82, 2000.

MULDER, J. H.; MASTEBROEK, H. D. **Variation for agronomic characteristics in *Crambe hispanica*, a wild relative of *Crambe abyssinica*.** *Euphytica*, v. 89, p. 267–278, 1996.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G. **Avaliação de parâmetros térmicos de óleo de palma e seus derivados por calorimetria diferencial de varredura (DSC).** *Química Nova*, v. 17, n.4, 1994.

NAWAR, W.W. **Lipids.** In: Fennema, O.R., Ed., *Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York, 1996.

NDIAYE, P. M.; FRANCESCHI, E.; OLIVEIRA, D.; Dariva, C.; Tavares, F.W.; Oliveira, J.W. **Phase behavior of soybean oil, castor oil and their fatty acid ethyl esters in carbon dioxide at high pressures.** *Journal Supercritical Fluids*, v. 37, p. 29–37, 2006.

NELDER, J. A.; MEAD, R. **A simplex method for function minimization.** *The Computer Journal*, v. 7, p. 308-313, 1965.

NEWKIRK, R. W.; CLASSEN, H. L.; SCOTT, T. A.; EDNEY, M. J. **The digestibility and content of amino acid in toasted and non-toasted canola meal.** *Canadian Journal of Animal Science*, v. 83, p. 131–139, 2003.

NIESHLAG, H. I.; WOLFF, L. A. **Industrial uses of high erucic oils.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 48, p. 723-725, 1971.

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

NIST, National Institute of Standards and Technology - Thermophysical Properties of Fluid Systems. Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>. Acesso em 10 julho 2013.

NO, D. S.; ZHAO, T.; KIM, B. H.; CHOI, H.; KIM, I. **Enrichment of erucic acid from crambe oil in a recirculated packed bed reactor via lipase-catalyzed ethanolysis.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v.87, p. 6–10, 2013.

NO, S. Y. **Inedible vegetable oils and their derivatives for alternative diesel fuels in CI engines: a review.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 131-149, 2011.

O'CONNOR, T. P.; O'BRIEN, N.M. **Lipid oxidation.** In Fox, PF, McSweeney P, editors. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids* (3rd Edition). Springer-Verlag, p. 557-600, 2006.

ONOREVOLI, B. **Estudo do *Crambe Abyssinica* como fonte de matérias primas oleaginosas: óleo vegetal, ésteres metílicos e bio-óleo.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 132 p., 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais).

ONYILAGHA, J.; BALA, A.; HALLETT, R. **Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa*, *Crambe* spp., *Thlaspi arvense* and several other genera of the family *Brassicaceae*.** *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 31, p.1309–1322, 2003.

OPLINGER, E. S.; OELKE, E. A.; KAMINSKI, A. R.; PUTNAM, D. H.; TEYNOR, T. M.; DOLL, J. D.; KELLING, K. A.; DURGAN, B. R.; NOETZEL, D. M. **Crambe: alternative field crops manual.** St. Paul: University of Minnesota, 1991.

OSAWA, C. C.; GONCALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. **Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis.** *Química Nova*[online], v.29, n.3, p. 593-599, 2006.

OSKOEUEIAN, E.; ABDULLAH, N.; HENDRA, R.; & KARIMI, E. **Bioactive compounds, antioxidant, xanthine oxidase inhibitory, tyrosinase inhibitory and anti-inflammatory activities of selected agro-industrial by-products.** *International journal of molecular sciences*, v. 12, p. 8610-8625, 2011.

PAPATHANASIOU, G. A.; LESSMAN, K. J.; NYQUIST, W. E. **Evaluation of eleven introductions of Crambe, *Crambe abyssinica* Hochst.** *Agronomy Journal*, v. 58, p. 587-589, 1966.

PARDAUIL, J. J. R.; SOUZA, L. K. C.; MOLFETTA, F.; ZAMIAN, J. R. , FILHO, G. N. R.; DA COSTA, C. E. F. **Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area.** *Bioresource Technology*, v. 102, p. 5873-5877, 2011.

PEDERSSETTI, M. M. **Análise Dos Efeitos Da Temperatura E Pressão Na Extração Supercrítica Do Óleo Essencial De Canola Com Dióxido De Carbono E N- Propano.** Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 65 p., 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química).

PEDERSSETTI, M. M; PALÚ, F.; SILVA, E. A.; ROHLING, J. H.; CARDOZO-FILHO, L.; DARIVA, C. **Extraction of canola seed (*Brassica napus*) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide.** *Journal of Food Engineering*, v. 102 p. 189-196, 2011.

PENEDO, P. L. M. **Estudo sobre a potencialidade da extração de produtos naturais utilizando co₂ supercrítico.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 139 p., 2007. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), , 2007.

PHILLIPS, K. M.; RUGGIO, D. M.; TOIVO, J. I.; SWANK, M. A.; SIMPKINS, A. H., **Free and esterified sterol composition of edible oils and fats.** *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 15, 123–142, 2002.

PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe.** Maracaju: Fundação MS, 2010. 60 p.

PLEIN, G. S.; FAVARO, S. P.; SOUZA, A. D. V.; SOUZA, C. F. T.; SANTOS, G. P.; MIYAHIA, M. A. M.; ROSCOE, R. **Caracterização da fração lipídica em**

sementes de crambe armazenadas com e sem casca. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA E I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 2010. v. I, p. 1812-1816.

PRINA, A. O; MARTINEZ-LABORDE, J. B. **A taxonomic revision of Crambe section Dendocrambe (Brassicaceae).** *Botanical Journal of the Linnean Society*. v. 156, p. 291-304, 2008.

PRINCEN, L.H. **New oilseed crops on the horizon.** *Journal Economy Botany*, v. 37, p.478-491, 1983.

PRONYK, C.; MAZZA, G. **Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts.** *Journal of Food Engineering*, v. 95, p. 215-226, 2009.

QUEIROZ, F. **Estudo da cinética de extração do óleo essencial de capim-limão com dióxido de carbono líquido.** Universidade Estadual de Campinas. 156 p., 1993. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentação)

RAKARIYATHAM, N., SAKORN, P. **Biodegradation of glucosinolates in brown mustard meal (*Brassica juncea*) by *Aspergillus* sp. NR-4201 in liquide and solid culture.** *Biodegradation* 3, 395–409, 2002.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. **A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino.** *Revista. Virtual Química*, v. 5, p. 2-15, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.** *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755, 2006.

REBLOVA, Z. **The effect of temperature on the antioxidant activity of tocopherols.** *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 108, p. 858–63, 2006.

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

REVERCHON, E.; DONSI, G.; OSSÉO, L. S. **Modeling supercritical fluid extraction from herbaceous matrices.** *Industry Engineering Chemical Research*, v. 32, n. 11, p. 2721-2726, 1993.

RODRIGUES, R. F.; **Extração da cumarina a partir de sementes da Emburana (*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono supercrítico.** Universidade Estadual de Campinas, 115 p., 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química).

RODRIGUES-RACK, J. N.; COTTING, L. N.; POLTRONIERI, T. P.; SILVA, R. C.; GIOIELLI, L. A. **Comportamento de cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de girassol.** *Food Science and Technology*, v. 30, p. 258-267, 2010.

ROSSETO, R. E.; SANTOS, R. F.; BASSEGIO, D.; SECCO, D., MELEGARI, S. N.; CHAVES, L. I.; FONASARI, C. H. **Efeito da secagem na extração de óleos em plantas com potencial energético.** *Acta Iguazu*, Cascavel, v.1, p. 69-77, 2012.

RUGGIERO, A., VITALINI, S., BURLINI, N., BERNASCONI, S., IRITI, M. **Phytosterols in grapes and wine, and effects of agrochemicals on their levels.** *Food Chemistry*, v.141, p.3473-3479, 2013.

SALDAÑA, M. D. A.; MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, S. I. **Oxidative stability of fats and oils measured by differential scanning calorimetry for food and industrial applications.** In A. A. Elkordy (Ed.) **Applications of calorimetry in a wide context - differential scanning calorimetry, isothermal titration calorimetry and microcalorimetry.** InTech, Rijeka, Croatia., 2013.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. **Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids—a review.** *Czech Journal of Food Sciences* , v. 23, p. 93-102, 2005.

SEVERINO, E. S.; ALVES, A. B.; FERRARI, R. A., SILVA, V. S. N.; PACHECO, M. T. **Otimização de parâmetros de extração do óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) para obtenção de farinha biofuncional.** VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo.

SHAHIDI , F., ZHONG, Y. **Lipid oxidation and improving the oxidative stability.** *Chemical Society Reviews*, v.39, p. 4067-4079, 2010.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects**, CRC Press, Boca Raton, FL, 2004.

SHASHIDHARA, Y. M.; JAYARAM, S. R. **Vegetable oils as a potential cutting fluid—An evolution**. *Tribology International*, v.43, p. 1073–1081, 2010.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. *Química Nova*, v. 22, 1999.

SILVA, I. C. M.; SANTOS, W. L.; LEAL, I. C.; ZOGHBI, M. G.; FEIRHMANN, A. C.; CABRAL, V. F.; MACEDO, E. N.; CORDOZO-FILHO, L. **Extraction of essential oil from *Cyperus articulatus* L. var. *articulatus* (priprioca) with pressurized CO₂**. *Journal of Supercritical fluids*, v. 88, p. 134-141, 2014.

SILVA, P. R.; MONTANHER, A. F.; ADÃO, D. C.; ZAGONEL, G. F.; ALVES, L. Z.; DELFINO, L. D.; ADAD, L. B.; VECHIATTO, W. W. D.; SUCHEK, E. M.; COSTA, B. J.; JASPER, S. P. **Caracterização físico-química de óleo e biodiesel metílico de crambe**. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL. Brasília, DF., 2009.

SINGH, S. P.; SINGH, D. **Biodiesel production through de use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: a review**. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 200-216, 2010.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent**. *Oxidants and Antioxidants*, v. 299, p. 152-178, 1999.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à Termodinâmica para Engenharia Química**. 7 ed. São Paulo: McGRAWHILL, 2005.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. PINHO, S. C. **Nanopartículas de lipídios sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial**. *Química Nova*, v. 34, p. 1762-1769, 2011.

SOUZA, A. D. V.; FÁVARO, S. P.; ITAVO, L. C. V. **Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambe.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, p. 1328-1335, 2009.

SOVOVÁ, H. **Rate of Vegetable Oil Extraction with Supercritical CO₂ – I and II Modelling of Extraction Curves.** *Chemical Engineering Science*, v. 49, n. 3, p. 409, 1994.

SPARKS, D.; HERNANDEZ, R.; ZAPPI, M.; BLACKWELL, D.; FLEMING, T. **Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane.** *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 83, p. 885-891, 2006.

SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M. **Antioxidant and phenolic content of nuts, oil seeds, milk and milk products commonly consumed in India.** *Food and Nutrition*, v. 2, p. 422-427, 2011.

TAN, C. P.; CHE MAN, Y.B.; SELAMAT, J.; YUSOFF, M. S. A. **Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods.** *Food Chemistry*, v. 76, p. 385-389, 2002.

TAN, C. S.; LIOU, D. S. **Modeling of Desorption at Supercritical Conditions.** *American Institute of Chemical Engineering Journal*, v. 35, n. 6, p. 1029, 1989.

TANDY, D. **Oilseed extraction. Introduction to facts and oils technology.** *American Oil Chemists Society*, 1991.

TEMELLI, F. **Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 47, p. 583-584, 2008.

TEMPLE-HEALD, C., **Rapeseed and Canola Oil: Productions, Processing, Properties and Uses**, Blackwell Publishing, Oxford, UK 2004, p. 111–130.

VEDANA, U. **Candidato à ‘cana do biodiesel’ do Centro-Oeste começa a ser colhido.** 22 JUNHO 2009. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/blog/vedana/2009/candidado-cana-biodiesel-co/>>. Acesso em: 20 agosto 2013.

VEDANA, U. **Crambe (*Crambe abyssinica*) promissora planta para Biodiesel.** 03 maio 2007. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/blog/vedana/2007/crambe-crambe-abyssinica-promissora-planta-para-biodiesel/>>. Acesso em: 20 agosto 2013.

VELASCO, J.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. **Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry.** *Food Chemistry*, v. 85, p. 624-632, 2004.

VIG, A.P.; WALIA, A. **Beneficial effects of *Rhizopus oligosporus* fermentation on reduction of glucosinolates, fiber and phytic acid in rapeseed (*Brassica napus*) meal.** *Bioresource Technology*, v. 78, p. 309–312, 2001.

WALKER, R. E. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society** (Method AOCS Ce 2-66) (4th). Champaign: American Oil Chemists Society, 1990.

WALLIG, M. A.; BELYEAB, R. L.; TUMBLESON, M. E. **Effect of pelleting on glucosinolate content of *Crambe* meal.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 99, p. 205–214, 2002.

WALLIG, M. A.; KORE, A. M.; CRAWSHAW, J.; JEFFERY, E. H. **Separation of the toxic and glutathione-enhancing effects of the naturally occurring nitrile cyanohydroxybutene.** *Fundamental and Applied Toxicology*, v. 19, p. 598–606, 1992.

WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. **Antioxidants: Science, Technology, and Applications.** In: SHAHIDI, F. (Ed). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. v. 1, 6th ed. John Wiley & Sons, Inc. EUA, 2005.

WANG, Y. P.; TANG, J. S.; CHU, C. Q. **A preliminary study on the introduction and cultivation of *Crambe abyssinica* in China, an oil plant for industrial uses.** *Industrial Crops and Products*, v.12, p. 47-52, 2000.

WARWICK. S. I., FRANCIS, A., AL-SHEHBAZ. I. A. **Brassicaceae: species checklist and database on CD-Rom**. *Plant Systematics and Evolution*, v. 259, p. 249–258, 2006.’

WEISS, E. A. **Oilseeds Crops; Chapter 10 – Crambe, niger and jojoba**. Tropical agriculture series; Longman Group Ltd. 1983. 463-485 p.

WU, H.; SHI, J.; XUE, S.; KAKUDA, Y.; WANG, D.; JIANG, Y. **Essential oil extracted from peach (*Prunus persica*) kernel and its physicochemical and antioxidant properties**. *LWT – Food Science and Technology*, v. 44, p. 2032-2039, 2011.

XUE, Z.; YU, W.; LIU, Z.; WU, M.; KOU, X.; WANG, J. **Preparation and antioxidative proprieties of a rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate and three peptide fractions**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 5287-5293, 2009.

YONG-GANG, L.; STEG, A.; HINDLE, V. A. **Crambe meal: a review of nutrition, toxicity and effect of treatments**. *Animal Feed Science and Technology*, v. 41, p. 133-147, 1993.

YOSHIDA, Y.; NIKI, E. **Antioxidant effects of phytosterol and its components**. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v.49, p. 277–280, 2003.

ZANETTI, F.; VAMERALIB, T; MOSCA, G. **Yield and oil variability in modern varieties of high-erucic winter oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) and Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) under reduced agricultural inputs**. *Industrial Crops and Products*, v. 30, p. 265–270, 2009.

ZIMMERMANN, H. G. **Une nouvelle plante oleagineuse de printemps *Crambe abyssinica* Hochst.** *OlCagineux*, v. 17, p. 527-530, 1966.