

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

**EXTRAÇÃO DE ORIZANOL DA BORRA DE NEUTRALIZAÇÃO DO ÓLEO DE
FARELO DE ARROZ**

**MAURÍCIO NEVES CALHEIROS
Engenheiro de Alimentos**

**Florianópolis – SC
2007**

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

**EXTRAÇÃO DE ORIZANOL DA BORRA DE NEUTRALIZAÇÃO DO ÓLEO DE
FARELO DE ARROZ**

MAURÍCIO NEVES CALHEIROS
Engenheiro de Alimentos

Orientador: Prof Dr. Haiko Hense

Florianópolis – SC
2007

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

**EXTRAÇÃO DE ORIZANOL DA BORRA DE NEUTRALIZAÇÃO DO ÓLEO DE
FARELO DE ARROZ**

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

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

Orientador: Prof Dr. Haiko Hense

MAURÍCIO NEVES CALHEIROS
Engenheiro de Alimentos

Florianópolis – SC
2007

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivos Específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Arroz.....	4
3.2 Farelo de arroz	7
3.3 Óleo de farelo de arroz.....	11
3.3.1 Produção do óleo de farelo de arroz	12
3.3.2 Borra de neutralização do óleo de farelo de arroz (RBOS).....	16
3.4 Antioxidantes	16
3.5 Orizanol.....	18
3.6 Extração supercrítica	21
3.6.1 CO ₂ supercrítico	26
3.6.2 Curva de extração	27
3.6.3 Rendimento.....	29
3.6.4 Modelagem	30
3.7 Produção de orizanol.....	32
3.7.1 Complexidades na extração do orizanol.....	32
3.7.2 Impurezas que interferem na extração do orizanol.....	33
3.7.3 Tecnologias de extração de orizanol.....	35
3.7.4 Métodos patenteados de produção de orizanol.....	36
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1 Matéria-prima.....	38
4.2 Determinação do teor de umidade da RBOS	38
4.3 Tratamento da matéria-prima.....	39
4.3.1 Saponificação	39
4.3.2 Secagem	40
4.3.3 Moagem e Análise Granulométrica.....	41
4.3.4 Determinação do teor de umidade do saponificado da RBOS.....	41
4.4 Extração dos insaponificáveis da RBOS.....	41
4.5 Tratamento com solução metanol-acetato de etila (1:1)	44
4.6 Coluna cromatográfica	44
4.7 Cristalização com solução de metanol: acetona.....	46
4.8 Extração supercrítica.....	46
4.8.1 Unidade de ESC	47
4.8.2 Verificação da influência da temperatura e pressão no rendimento da extração do orizanol do saponificado da RBOS e da fração insaponificável da RBOS.	49
4.8.3 Determinação do rendimento global.....	50

4.8.4 Experimentos Cinéticos – Curvas de Extração.....	50
4.8.5 Modelagem matemática	51
4.9 Avaliação do teor de orizanol	51
4.10 Fluxograma das atividades desenvolvidas para extração e purificação do orizanol presente na RBOS.....	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 Umidade da materia-prima	53
5.2 Teor de orizanol na matéria-prima	53
5.3 Saponificação da RBOS	54
5.4 Extração dos insaponificáveis presentes na RBOS	57
5.5 Tratamento da matéria insaponificável com solução metanol-acetato de etila.....	60
5.6 Separação do orizanol por coluna cromatográfica	62
5.7 Cristalização do orizanol	63
5.8 Extração supercrítica da RBOS para obtenção de uma fração enriquecida em orizanol	64
5.8.1 Extração supercrítica utilizando a RBOS saponificada	64
5.8.2 Extração supercrítica utilizando a fração insaponificável extraída da RBOS.....	69
5.8.3 Inversão das isothermas de rendimento para ESC utilizando o saponificado da RBOS e do material insaponificável extraído da RBOS ..	74
5.8.4 Cinética e modelagem matemática da ESC utilizando o saponificado da RBOS e o material insaponificável extraído da RBOS	77
6. CONCLUSÕES.....	82
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Desenho esquemático da constituição do grão de arroz.	6
Figura 2 Ranking estadual da produção (em 1.000 t) de arroz em 2004/05.	7
Figura 3 Ranking mundial de produção (em milhões de toneladas) de arroz em 2002.	7
Figura 4 Fluxograma do processamento do óleo de arroz.	15
Figura 5 Principais compostos constituintes do γ -orizanol.	19
Figura 6 Fluxograma de extração supercrítica de matrizes sólidas.	24
Figura 7 Curva típica de extração.	28
Figura 8 Aparato de Soxhlet para extração de óleos vegetais em escala laboratorial.	43
Figura 9 Aparato utilizado para extração e evaporação do solvente na etapa de extração dos insaponificáveis presentes no segundo saponificado da RBOS.	43
Figura 10 Ilustração do funcionamento da coluna cromatográfica.	44
Figura 11 Foto da coluna cromatográfica utilizada nos experimentos.	45
Figura 12 Ilustração da unidade ESC.	48
Figura 13 Esquema da unidade ESC.	48
Figura 14 Fluxograma das atividades desenvolvidas na recuperação do orizanol presente na RBOS.	52
Figura 15 Foto do processo de saponificação da RBOS.	56
Figura 16 Foto do saponificado obtido da RBOS (esquerda) e da matéria-prima (RBOS, à direita).	57
Figura 17 Média e análise da diferença estatística dos tempos de extração da fração insaponificável da RBOS utilizando teste de Tukey, onde letras iguais significam a ausência de diferença significativa entre os tempos.	59
Figura 18 Foto da fração insaponificável obtida pós-tratamento com solução metanol-acetato de etila (1:1).	62
Figura 21 Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para a ESC da RBOS saponificada.	75
Figura 22 Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para a ESC do material insaponificável extraído da RBOS.	75
Figura 23 Curva de extração utilizando RBOS saponificada, nas condições de 300 bar, 60 °C e 0,6 kg/h.	77

Figura 24 Curva de extração utilizando o material insaponificável extraído da RBOS nas condições de 300 bar, 60 °C e 0,6 kg/h.....	78
Figura 25 Curva experimental e modelada para a ESC da RBOS saponificada na vazão de CO ₂ de 0,6 kg/h pressão de 300 bar e temperatura de 60 °C.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Comparação das composições químicas dos grãos de arroz, milho, trigo e aveia.	5
Tabela 2 Aminoácidos contidos no padrão de proteína de alta qualidade e no farelo de arroz, comparados às recomendações de referência, expressos em mg/g de proteína.....	10
Tabela 3 Composição centesimal do farelo de arroz.	11
Tabela 4 Solubilidade do γ -orizanol.	21
Tabela 5 Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extração com solvente orgânico.....	42
Tabela 6 Planejamento experimental fatorial completo 3^2 , com as variáveis temperatura e pressão, variando em 3 níveis.....	49
Tabela 7 Teor de umidade da RBOS.	53
Tabela 8 Quantidade de orizanol presente na RBOS.	54
Tabela 9 Tabela da influência da umidade nas etapas de extração para purificação do orizanol.	55
Tabela 10 Rendimento, média e desvio padrão da etapa de saponificação da RBOS.....	56
Tabela 11 Rendimento médio da etapa de extração dos insaponificáveis da RBOS saponificada e seus respectivos desvios padrões.....	58
Tabela 12 Rendimento, média e desvio padrão da etapa de tratamento do material insaponificável extraído da RBOS com solução de metanol–acetato de etila (1:1).	60
Tabela 13 Média do rendimento obtido usando clorofórmio e hexano como eluente em coluna cromatográfica, utilizando a fração insaponificável da RBOS como material de alimentação na coluna.	62
Tabela 14 Valores de densidade do CO_2 e do rendimento de extrato obtido nas condições de pressão de 100 bar, 200 bar e 300 bar, temperatura de 30 °C, 45 °C e 60 °C e vazão de CO_2 de 0,6 kg/h, utilizando a RBOS como matéria-prima.	65
Tabela 15 Valores de densidade do CO_2 , do teor de orizanol e da recuperação de orizanol da RBOS obtido nas condições de pressão e temperatura do planejamento experimental da ESC da RBOS.	67

Tabela 16 Valores do rendimento de extrato obtido nas condições de pressão de 100 bar, 200 bar e 300 bar, temperatura de 30 °C, 45 °C e 60 °C e vazão de CO ₂ de 0,6 kg/h, utilizando o material insaponificável como matéria-prima.....	70
Tabela 17 Valores de densidade do CO ₂ , do teor de orizanol e da recuperação de orizanol da RBOS obtido nas condições de pressão e temperatura do planejamento experimental da ESC da fração insaponificável da RBOS.....	73
Tabela 18 Tempo de duração das etapas CER e FER e taxa de extração na etapa CER.	79
Figura 26 Curva experimental e modelada para ESC da fração insaponificável extraída da RBOS na vazão de CO ₂ de 0,6 kg/h, pressão de 300 bar e temperatura de 60 °C.....	80
Tabela 19 Coeficientes, parâmetros ajustáveis e o erro médio quadrático (EMQ) obtidos através de modelagem das curvas de ESC utilizando a RBOS saponificada e o insaponificável extraído da RBOS.....	81

NOMENCLATURA

b	Parâmetro ajustável do modelo LM (min^{-1})
B	Parâmetro ajustável do modelo de Esquível et al. (1999)(s)
D_m	Difusividade na matriz sólida - modelo SSP (m^2/min)
F	Massa de matéria-prima (kg)
h	Coordenada axial (m)
H	Comprimento total do leito de extração (m)
m_{ext}	Massa de extrato (g)
m_0	Massa total inicial de soluto na coluna de extração (g)
M_{CER}	Taxa de extração na etapa CER (kg/s)
n	Número inteiro
N	Perda de peso (g)
P	Massa inicial de amostra (g)
T	Temperatura de extração ($^{\circ}\text{C}$)
t	Tempo de extração (s)
t_{CER}	Duração da etapa de taxa constante de extração - CER (s)
t_{FER}	Duração da etapa de taxa decrescente de extração - FER (s)
t_m	Parâmetro ajustável do modelo LM (min^{-1})
X_0	Razão mássica inicial de soluto na fase sólida (kg/kg)
X_0	Rendimento global (%)
X	Razão mássica de soluto na fase sólida ($\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{sólido}}$)
W	Parâmetro para o período de taxa de extração lenta
Y	Razão mássica de soluto na fase fluida ($\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{solvente}}$)
Y_{CER}	Razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER ($\text{kg}_{\text{extrato}}/\text{kg}_{\text{CO}_2}$)
Y^*	Concentração de equilíbrio (solubilidade) ($\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{solvente}}$)
Z	Parâmetro do período CER
δ	Espessura das partículas (m)

RESUMO

O γ -orizanol é definido como uma mistura de ésteres do ácido ferúlico com esterois ou álcoois triterpênicos. Sendo um composto antioxidante natural, possui grande importância para indústria de alimentos e farmacêutica. O conteúdo de γ -orizanol no óleo de farelo de arroz bruto está na faixa de 1 % - 2 %. Este composto tem sido utilizado no Japão para conservar óleos, alimentos e bebidas e também em fórmulas medicinais e cosméticas. O objetivo deste trabalho foi recuperar o γ -orizanol presente na borra da neutralização do óleo de farelo de arroz (RBOS). A matéria-prima utilizada na realização deste trabalho foi a borra proveniente da neutralização do óleo bruto de farelo de arroz (RBOS), da indústria IRGOVEL S.A., localizada no município de Pelotas, Rio Grande do Sul. A borra de neutralização foi inicialmente tratada com álcali para sua saponificação e posteriormente foi seca durante 2 h ao ar livre e 4 h em estufa. A matéria insaponificável contida na RBOS foi extraída e tratada com solvente orgânico, posteriormente este material foi permeado por coluna cromatográfica e o resíduo foi cristalizado para purificação do orizanol. A RBOS saponificada e o insaponificável extraído da RBOS foram submetidos à extração supercrítica (ESC), sendo testadas diversas condições de temperatura e pressão. Os extratos obtidos foram analisados quanto ao teor de orizanol, por HPLC-UV. O teor de orizanol presente na RBOS foi de 1,45 %, dentro da faixa citada na literatura. O rendimento da ESC utilizando a RBOS saponificada variou desde 0,22 % \pm 0,04 % até 12,51 % \pm 0,52 %, sendo que tanto pressão como temperatura apresentaram efeitos significativos no rendimento, com o maior valor obtido em 300 bar e 60 °C. Nestas condições se obteve, também, o maior teor de orizanol extraído, 16 %, e a maior recuperação de orizanol, que foi de 75 % do orizanol presente na RBOS. Os valores de rendimento obtidos para o insaponificável extraído da RBOS variaram de 0,90 % \pm 0,04 % até 6,31 % \pm 0,38 %, sendo que a maior recuperação e teor de orizanol, 6,26 % e 9,9 %, respectivamente, foram obtidos a 300 bar e 45 °C. Os modelos de transferência de massa utilizados para descrever as curvas de ESC foram: Esquivel et al., (1999), Gaspar et al., (2003) e Martínez et al., (2003). O modelo Martínez et al., (2003) apresentou o melhor ajuste para as curvas de ESC da RBOS saponificada e da fração insaponificável extraída da RBOS.

ABSTRACT

The gamma-oryzanol is defined as a mixture of ferulic acid esters with sterol or triterpenic alcohols. It is considered a natural antioxidant compound with increasing importance in the food and pharmaceutical industry. The γ -oryzanol in raw rice bran oil is in the range of 1 % - 2 %, and is been used in Japan to preserve oils, foods and soft drinks and in medicals and cosmetics. The objective of this study is to recuperate γ -oryzanol from the rice bran oil soap stock (RBOS). The raw material utilized in this study was provided by IRGOVEL S.A., located in Pelotas, Rio Grande do Sul. The neutralization sludge was initially prepared with alkali for the saponification and in sequence dried during 2 h at air and 4 h in oven-drying. The unsaponifiable material from the RBOS was extracted and treated with organic solvent, in sequence it was permeated through a chromatographic column and the residual crystallized to purificate the oryzanol. The saponificated RBOS and the unsaponificated extract from RBOS were extracted with supercritical solvent (ESC) under different pressure and temperature conditions. The obtained extracts were analyzed to quantify the γ -oryzanol via HPLC-UV. The γ -oryzanol content in the RBOS was 1.45%, in between the literature data. The ESC yield utilizing saponificated RBOS varied from 0.22 % \pm 0.04 % to 12.51 % \pm 0.52 %. The temperature and pressure presented important effects over the yield with the best value been obtained at 300 bar and 60 °C. At these conditions the highest γ -oryzanol amount was extracted, 16%, and the major γ -oryzanol recovery of 75% from the γ -oryzanol present in the RBOS. The yield values obtained for the unsaponificable extracted from the RBOS varied from 0.90 % \pm 0.04 % to 6.31 % \pm 0.38 %. The higher γ -oryzanol recovery (6,26 % and 9,9 %) was respectively from 300 bar and 45 °C. The mass transfer models utilized to describe the supercritical extraction curves were: Esquivel et al. (1999), Gaspar et al. and Martínez et al (2003). The Martínez et al. (2003) model presented the best fit to the saponificated RBOS and to the unsaponificated RBOS fraction extraction ESC curves.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente existe um grande interesse em compostos naturais com atividades biológicas, que possam substituir substâncias sintéticas as quais são utilizadas na indústria de alimentos e farmacêutica.

O orizanol é um importante co-produto do arroz e do refino do óleo de farelo de arroz devido a sua capacidade antioxidante e aos seus possíveis usos farmacológicos, como a aceleração do crescimento em animais, combate de doenças cefálicas e cervicais, coadjuvante no tratamento de doenças circulatórias (SEETHARAMAIAH; PRABHAKAR, 1986), sendo utilizado em alguns países para conservar óleos, alimentos e bebidas na forma de uma mistura sinérgica com a vitamina E e também em fórmulas medicinais e cosméticas (TSUNO, 1995). Uma das características do orizanol é que ele pode ser usado em associação com outros antioxidantes naturais, obtendo misturas capazes de superar os estabilizantes sintéticos mais comumente usados. Essa característica é muito interessante, visto que o mesmo possui outras atividades biológicas, podendo ser usado, assim, como um ingrediente multifuncional para formulações farmacêuticas, cosméticas e para alimentos (JULIANO et al., 2005).

O orizanol foi inicialmente encontrado no óleo de farelo de arroz em 1954. Como foi isolado do óleo obtido a partir do arroz (*Oryza Sativa*) e continha um grupo hidroxila em sua estrutura, foi convenientemente chamado de orizanol. Estudos posteriores revelaram que o orizanol não é um composto simples e sim uma mistura de ésteres do ácido ferúlico (GRAF, 1992).

O isolamento do orizanol da borra de neutralização do óleo de farelo de arroz (RBOS), um subproduto da produção do óleo de farelo de arroz, tem recebido muita atenção, particularmente em países produtores de arroz, sendo que a produção, que envolve isolamento e purificação de orizanol, apresenta alguns problemas, que são raramente discutidos, devido à quantidade de compostos que interferem durante sua lixiviação, extração e cristalização (NARAYAN et al., 2006).

A extração supercrítica (ESC) envolve duas etapas: a extração e a separação. A extração é baseada no contato de uma matriz sólida com o solvente, de forma que este remove do sólido as substâncias solúveis. A separação, que difere dos processos convencionais, é obtida após a extração com a redução da pressão, obtendo-se o produto final. A extração com fluido supercrítico pode ser operada sob uma ampla faixa de condições (temperatura e pressão de operação). O ajuste conjunto destes parâmetros de processo afeta a solubilidade de cada composto no solvente,

possibilitando a extração seletiva dos produtos desejados com melhores características funcionais e nutricionais (BRUNNER, 1994).

A utilização da tecnologia supercrítica para extração do orizanol presente na RBOS é uma excelente alternativa para recuperação deste orizanol. Os conceitos de eficiência e seletividade foram propulsores para o crescente interesse da comunidade científica e do setor industrial em relação aos processos de ESC, ou seja, uma tecnologia alternativa que visa resolver problemas de separação. Como principal justificativa, indica-se propriedades dos fluidos supercríticos, que englobam as vantagens dos fluidos nos estados líquido e vapor, simultaneamente, quanto à solubilidade (BRENNECKE; ECKERT, 1989).

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi obter e purificar o orizanol presente na borra da neutralização do óleo de farelo de arroz (RBOS), utilizando diversas metodologias, comparando o teor e o rendimento do orizanol obtido.

2.1 Objetivos Específicos

- Determinar as melhores condições de saponificação e extração dos insaponificáveis da RBOS.
- Utilizar coluna cromatográfica, testando eluentes para obter o melhor rendimento e pureza do orizanol.
- Avaliar os efeitos de temperatura e pressão no rendimento e pureza do orizanol obtido por extração com CO₂ supercrítico.
- Comparar e definir o melhor método, dentre os estudados, para recuperação do orizanol da RBOS.
- Modelagem das curvas de extração de orizanol utilizando os seguintes modelos disponíveis na literatura: Esquível et al. (1999), Gaspar et al. (2003) e Martinez et al. (2003).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Arroz

O arroz cultivado, *Oriza sativa*, são plantas monocotiledôneas (classe Liliopsida) da família Poaceae (anteriormente Graminae). Há 650 gêneros e talvez 9.000 espécies de gramas. Estima-se que pastos e savanas compreendem 20 % da vegetação que cobre a terra. No Brasil, ocorrem cerca de 180 gêneros e 1500 espécies. Esta família botânica é a mais importante de todas as famílias de plantas para economia humana, incluindo gramas de forragem; os grãos que são o principal alimento cultivado no mundo, e o bambu, usado extensamente para a construção em toda Ásia (WIKIPEDIA, 2007).

Botanicamente o grão de arroz é um fruto, denominado cariopse, em que o pericarpo está fundido com o tegumento da semente propriamente dita. Este está envolvido pela casca (lema e pálea). Na Tabela 1 são comparadas as composições químicas dos grãos de arroz, milho, trigo e aveia. Destes cereais, o arroz possui a mais baixa percentagem de proteína e a mais alta percentagem de carboidratos solúveis (SINDARROZ - SC, 2007).

Para poder ser cultivado com sucesso, o arroz necessita de água em abundância, para manter a temperatura ambiente dentro de intervalos adequados, e, nos sistemas tradicionais, de mão-de-obra intensiva. Desenvolve-se bem mesmo em terrenos muito inclinados e é costume, nos países do sudeste asiático encontrarem-se socalcos onde é cultivado. Em qualquer dos casos, a água mantém-se em constante movimento, embora circule a velocidade muito reduzida. É a terceira maior cultura cerealífera do mundo, apenas ultrapassado pelo milho e trigo (IRGA, 2005).

Tabela 1 Comparação das composições químicas dos grãos de arroz, milho, trigo e aveia.

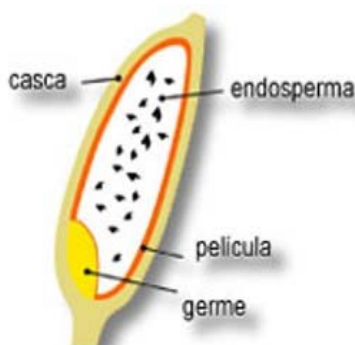
Componente	Arroz	Milho	Trigo	Aveia
Umidade (%)	12,0	10,6	12,0	8,3
Proteína (%)	7,2	9,4	11,8	14,2
Lipídios (%)	0,6	4,3	1,2	7,4
Cinzas (%)	0,5	1,3	0,5	1,9
Fibra (%)	0,6	1,8	0,4	1,2
Carboidratos Solúveis (%)	79,7	74,4	74,5	68,2
Energia (cal/100 g)	364,0	361,0	365,0	390,0
Tiamina (mg)	0,08	0,43	0,12	0,60
Riboflavina (mg)	0,03	0,10	0,07	0,14
Niacina (mg)	1,6	1,9	1,4	1,0

Fonte: BRESANI, 1971, citado por SINDARROZ - SC, 2007.

Dentre os cereais de importância no Brasil, destaca-se o arroz, que contém, aproximadamente, de 6 % a 8 % do seu peso em farelo. É neste farelo que se encontra a maior parte da reserva lipídica do arroz, entre 15 % e 20 %. Além disso, possui de 5 % a 8 % de proteínas, 40 % a 50 % de carboidratos solúveis e de 5 % a 8 % de fibras (MORETTO; FETT, 1998).

O arroz representa alimento de primeira necessidade para grande parte da população humana. Recomendado na dieta convalescente de quase todas as doenças, o arroz contém cerca de 12 % de água e, em menor quantidade, celulose, matéria graxa, cloreto de potássio, magnésio, manganês, sais de cálcio, sais de potássio, enxofre, óxido de ferro, cloro, ácido fosfórico e demais vitaminas. O arroz fica abaixo do trigo e do milho, outros importantes cereais, em valor nutritivo. A sua quantidade limitada de proteínas, lipídios, minerais e algumas vitaminas são compensados, no entanto, pela fácil digestão e pela possibilidade de combinações do arroz com outros alimentos, que acabam preenchendo as necessidades nutritivas do ser humano (MORETTO; FETT, 1998).

O grão de arroz in natura pode ser dividido em três partes: grão, farelo e casca, durante o processamento. Atualmente a casca tem sido usada como combustível em fornalhas e proteção do solo; o farelo, utilizado em ração animal e para obtenção do óleo de arroz. O grão é a parte consumida como alimento (IRGA, 2005). A Figura 1 apresenta um desenho esquemático de um grão de arroz e suas divisões. Um aspecto interessante na produção do arroz é que durante o processo de polimento retira-se o germe, causando uma diminuição no teor de gordura e também na possibilidade de oxidação, aumentando significativamente sua vida de prateleira.

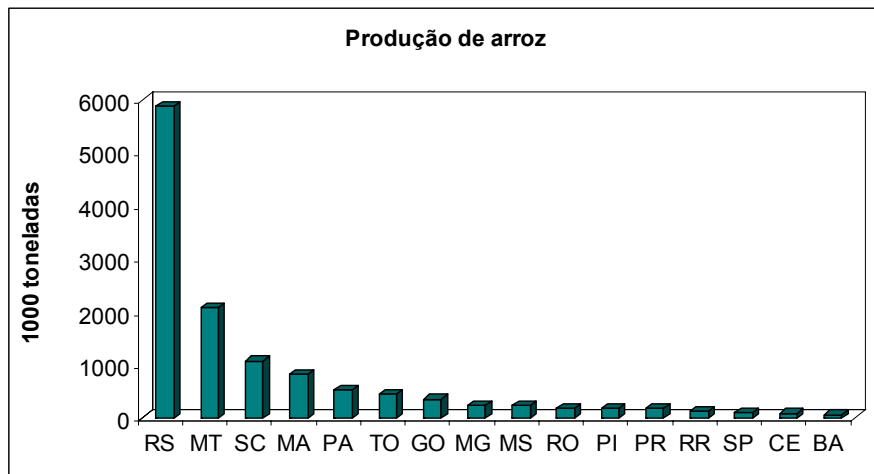


Fonte: IRGA, 2005.

Figura 1 Desenho esquemático da constituição do grão de arroz.

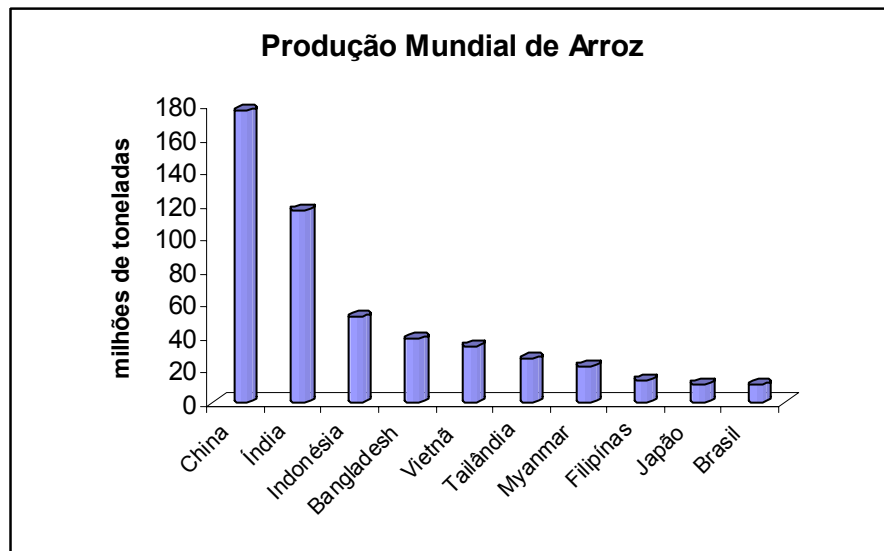
Em geral, as culturas agrícolas, como o arroz, produzem uma quantidade de sobras muito maior do que a parte utilizada para fins alimentícios. Sales et al. (1988) cita que apenas cerca de 5 % da produção, ou seja, nutrientes em potencial, disponíveis para a alimentação humana ou animal, são aproveitados. O restante é constituído de palhas ou resíduo industrial.

O Brasil ocupa a décima colocação no ranking mundial de produção de arroz, sendo o maior produtor americano. Entre os estados, o Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro de arroz, seguido dos estados do Mato Grosso e Santa Catarina. A Figura 2 apresenta o gráfico do ranking nacional de produção de arroz em casca, por estado, no ano de 2004/05 (CONAB, 2005). A Figura 3 apresenta o gráfico do ranking mundial de produção de arroz no ano de 2002 (EMATER-RO, 2005).



Fonte: CONAB, 2005.

Figura 2 Ranking estadual da produção (em 1.000 t) de arroz em 2004/05.



Fonte: EMATER-RO, 2005.

Figura 3 Ranking mundial de produção (em milhões de toneladas) de arroz em 2002.

3.2 Farelo de arroz

Até a década de 70 estava reservada ao farelo de arroz a visão nefasta de seus ácidos orgânicos, como capazes de promover a quelação, seqüestrando importantes minerais. Assim, a preocupação era mantê-lo o mais longe possível de crianças, devido à sua fase de formação, e dos pertencentes à terceira idade, mais

precisamente das mulheres (osteoporose). O fundamento está na formação de fitatos, pela reação do ácido fítico, seqüestrando o cálcio (IRGA, 2005).

O farelo de arroz é um subproduto da industrialização do arroz, obtido durante a etapa de brunimento, após o processo de descascamento, onde é retirada a película presente entre o grão e a casca. O maior problema no aproveitamento do farelo de arroz tem sido sua forma de conservação, devido à rápida oxidação que o mesmo sofre por possuir enzimas oxidativas livres presentes, sendo necessária a estabilização quase que imediata após sua produção (AZEREDO, 1992).

O farelo de arroz representa em torno de 12 % do arroz com casca. É constituído por diversas frações, portanto a composição depende da variedade do arroz e do seu processo de beneficiamento (COSTA; FRANÇA, 1993). Corresponde às camadas mais externas do grão (germe, pericarpo, camada de aleurona e pequenas porções de endosperma) e possui proteínas em concentrações próximas às de outros alimentos que são boas fontes protéicas, sendo também rico em fibras e sais minerais, como fósforo, ferro e magnésio (MASSARO, 2001).

Várias investigações mostram que o farelo de arroz, considerado um subproduto do processamento do arroz, assim como seu óleo, possuem propriedades hipocolesterolêmicas, diminuindo o nível de colesterol em animais e humanos (SCAVARIELLO et al., 1998).

Em relação ao conteúdo de aminoácidos, o farelo de arroz se encontra privilegiado quando comparado aos farelos de outros cereais, principalmente pelo conteúdo de lisina. Entretanto, possui baixa digestibilidade e PER (taxa de eficiência protéica). As principais proteínas encontradas no farelo são as albuminas, globulinas, glutelinas e prolaminas (SILVA et al., 2001).

O teor de lipídios encontra-se entre 16 % e 22 %, mas o arroz parboilizado, devido ao tratamento diferenciado do grão, possui índices maiores e teor de amido bem reduzido. O óleo de arroz possui pouco ácido linolênico e alta quantidade de tocoferóis, o que garante mais estabilidade oxidativa. É uma boa fonte de ácidos graxos essenciais e possui orizanóis e tocotrienóis, que há muito são estudados por causarem benefícios à saúde (SILVA et al., 2001).

O orizanol possui capacidade antioxidante e hipocolesterolêmica; Costa e França (1993) verificaram que seu consumo apresenta fatores fisiológicos positivos, como a diminuição no colesterol de baixa densidade (LDL) e de cálculos renais, pois diminui a absorção de cálcio pelo organismo.

O conteúdo de açúcares livres, no farelo de arroz, varia entre 3 % e 8 % incluindo glicose, arabinose, xilose, manose e rafinose. As fibras totais variam de 20 % a 25 % no farelo integral e de 24 % a 28 % no farelo de arroz desengordurado (FAD). Já as fibras solúveis representam 1,8 % a 2,6 % no integral e 2 % a 2,4 % no FAD (SILVA et al., 2001).

O farelo é também uma boa fonte de vitaminas e minerais. Estas variam de acordo com vários fatores, como sua viabilidade no solo durante o crescimento da planta. Os minerais mais encontrados no farelo são o potássio, magnésio, fósforo e silício, mas a disponibilidade é afetada pelo alto teor de fibras e pelos fitatos (SILVA et al., 2001).

Os fitatos, assim como os inibidores de tripsina e as hemaglutininas, são fatores antinutricionais presentes no farelo de arroz, que interferem na biodisponibilidade de nutrientes e/ou apresentam efeitos tóxicos no organismo humano. Tanto os inibidores de tripsina, quanto as hemaglutininas não são grandes problemas no farelo, porque são facilmente inativadas pelo calor (SILVA et al., 2001).

O ácido fítico está presente nos vegetais e retém 70 % dos fosfatos, na forma de fitina (inositol + sais de magnésio, potássio e cálcio) (SILVA et al., 2001). Trata-se de um composto muito problemático, pois sua presença é muito controversa. Muitos pesquisadores vêem com maus olhos a presença de fitatos, devido à ação quelante de cátions, enquanto outros, acreditam que esta presença acarretaria em efeitos positivos como a ação antioxidante. Estudos de Cúneo (1999) mostram que a presença de fitatos protege os indivíduos da ação de metais pesados no organismo, sendo outro aspecto positivo e muito discutido.

Pesquisas indicam que o farelo de arroz integral é uma excelente fonte de proteínas (14,6 %), minerais (7 %), gordura insaturada (17 %) e fibra dietética (27 % no total, sendo 2 % solúveis), enquanto que o farelo desengordurado apresenta 65 % de fibras (9 % solúveis), 17 % de proteínas e 18 % de minerais. Estes estudos confirmam que a fibra do farelo tem um bom potencial aplicativo na alimentação, especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais (ABDUL-HAMID; LUAN, 2000).

A Tabela 2 apresenta a comparação entre o padrão aminoacídico da proteína de alta qualidade (FOOD AND NUTRITION BOARD, 1980) e os perfis de aminoácidos do farelo de arroz torrado e da silagem integral de tilápia do Nilo, em relação aos requeridos pela FAO, para as diferentes faixas etárias.

Tabela 2 Aminoácidos contidos no padrão de proteína de alta qualidade e no farelo de arroz, comparados às recomendações de referência, expressos em mg/g de proteína.

Aminoácidos Essenciais	Recomendações FAO / OMS		Proteína * de alta qualidade	Farelo ** de Arroz Torrado	
	Crianças				Adultos
	~2 anos	10-12 anos			
Histidina (mg/g)	19	19	11	17	36
Isoleucina (mg/g)	28	28	13	42	35,4
Leucina (mg/g)	66	44	19	70	72,2
Lisina (mg/g)	58	44	16	51	37,4
Metionina + Cistina (mg/g)	25	22	17	26	24
Fenilalanina + Tirosina (mg/g)	63	22	19	73	31,4
Treonina (mg/g)	34	28	9	35	46
Triptofano (mg/g)	11	9	5	11	16,1
Valina (mg/g)	35	25	13	48	74,5

Fonte: BENITES, 2003; * FOOD AND NUTRITION BOARD, 1980; ** SGARBIERI, 1996.

O farelo pode ser usado em misturas de cereais, multimisturas e vitaminas concentradas, por ser rico em niacina, tiamina, vitamina B₆, ferro, fósforo, magnésio e potássio. Também é muito utilizado em ração animal (PERRETI et al., 2002).

A maior dificuldade do aproveitamento do farelo de arroz tem sido a sua forma de estabilização, imediatamente depois de produzido. Além disso, não tem sido fácil encontrar sistemas de estabilização simples de baixo custo de operação, que permitam reunir e transportar o farelo de arroz até as plantas de extração de seu óleo. Em algumas regiões tentou-se processá-lo fresco desde os moinhos de onde se faz o polimento do arroz, até uma planta capaz de extrair seu óleo, mas a coordenação da operação é muito complexa e dificilmente se obtém resultados satisfatórios (MORETTO; ALVES, 1986).

À medida que aumenta a acidez, não só se reduz de maneira drástica os rendimentos como também se reduz a qualidade do óleo refinado obtido. Há uma

regra utilizada por alguns processadores: os farelos com acidez inferior a 15 % se destinam à produção de óleo comestível enquanto que os com acidez superior são utilizados em aplicações industriais (ABOISSA, 2006).

O farelo de arroz proveniente do beneficiamento do arroz parboilizado já está estabilizado termicamente pelo próprio processo, sendo, portanto, mais estável e contendo maior teor lipídico quando comparado ao farelo resultante do arroz brunido (SILVA, 2001). A Tabela 3 apresenta a composição centesimal dos farelos de arroz polido e parboilizado.

Tabela 3 Composição centesimal do farelo de arroz.

Teor	Farelo polido	Farelo parboilizado
Umidade (%)	9,96	7,96
Proteína (%)	11,49	12,51
Lipídios (%)	17,42	24,36
Carboidratos (%)	53,53	46,51
Cinzas (%)	7,77	8,45

Fonte: SILVA, 2001.

3.3 Óleo de farelo de arroz

O interesse pelo óleo de arroz tem sido intensificado nos últimos anos, devido a uma série de resultados nutricionais positivos em animais e humanos, como a capacidade de redução do colesterol sanguíneo (ORTHOEFER, 1996). O óleo de arroz constitui-se em cerca de 20 % do farelo e seus maiores constituintes são os ácidos oléico, linoléico e ésteres de ácido palmítico (IRGA, 2005).

Investigações têm demonstrado que a ingestão do óleo de farelo de arroz causa uma redução no colesterol de baixa densidade (LDL) e também do acúmulo de gorduras nas artérias. Tem sido estudado que essa redução deve-se não somente pela composição dos ácidos graxos presentes no óleo, mas também pela presença de outros componentes. Destacam-se os tocotrienóis e o γ -orizanol, encontrados na fração insaponificável do óleo, apontados como possíveis responsáveis por esses efeitos (ROGERS et al., 1993).

A matéria insaponificável do óleo de arroz é rica em esteróis, tocoferóis e tocotrienóis, sendo que o principal componente presente é o γ -orizanol, relatado como substância com atividade antioxidante e hipocolesterolêmica sendo utilizado industrialmente em alimentos, cosméticos e como agente farmacêutico (SCARAVIELLO, 2002).

O óleo de farelo de arroz é produzido atualmente em níveis bem inferiores ao seu potencial, devido a uma série de dificuldades encontradas no processamento, ocasionadas principalmente pela presença de lipases que aumentam o teor de ácidos graxos livres pós a extração do farelo, podendo alcançar 70 % do peso do óleo, reduzindo o rendimento do óleo neutro e dificultando seu refinamento (SALUNKHE et al., 1991). Para fins comestíveis, os ácidos graxos livres se tornam um fator limitante no processo de extração (Azeredo, 1992). Além disso, uma quantidade significativa de fitoesteróis naturalmente presentes nos óleos vegetais são perdidos nos subprodutos, durante o processo de refino. Produtos enriquecidos com fitoesteróis são atualmente feitos com fitoesteróis isolados desses subprodutos, sendo que os métodos de isolamento e purificação dos mesmos envolvem operações complexas e com gasto intenso de energia, como destilação molecular, extração líquido-líquido e cristalização (DUNFORD et al., 2002).

O óleo de arroz possui importantes micronutrientes que permanecem praticamente inalterados no óleo até sua purificação final. Além disso pode possuir baixa taxa de peróxidos, resiste a oxidação ao cozinhar e possui ótimas propriedades nutricionais, sendo considerado um produto Premium (IRGA, 2005).

3.3.1 Produção do óleo de farelo de arroz

Atualmente a maior parte da produção mundial de óleo de farelo de arroz é via extração com solventes, podendo ser a frio ou a quente. Geralmente o solvente escolhido é o hexano, por se enquadrar nas características necessárias para ser usado em produtos alimentícios, como baixa toxicidade. Após a extração do óleo do farelo de arroz o óleo bruto passa por várias etapas chamadas de refino do óleo (MORETTO; ALVES, 1998).

O objetivo do refino é melhorar a aparência, odor e sabor pela remoção do óleo bruto dos seguintes componentes (MORETTO; ALVES, 1986):

- Substâncias coloidais, proteínas, fosfatídios e produtos de sua decomposição;
- Ácidos graxos livres e seus sais, lactonas, acetais e polímeros;
- Corantes como clorofila, xantofila e carotenóides;
- Voláteis como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres de baixo peso molecular;
- Substâncias inorgânicas como sais de cálcio e de outros metais, silicatos, fosfatos e outros;
- Umidade.

As principais etapas do processo são: degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização.

- Degomagem

Sua finalidade é remover fosfatídios, proteínas e colóides e produzir óleos crus capazes de serem refinados, por via química ou física com a mínima contaminação ambiental. A degomagem facilita o armazenamento e transporte do óleo cru, produz fosfatídios como subproduto valioso, facilita o refino alcalino, aumentando o rendimento e a qualidade do óleo final, diminui a poluição por água ácida depois do desdobramento da borra (MORETTO; ALVES, 1986).

A degomagem com água consiste na adição de 1 % a 3 % de água ao óleo aquecido a uma temperatura de 60 °C a 70 °C e agitação por 20 min a 30 min. Forma-se um precipitado que é removido por centrifugação a 6000 rpm. As gomas (com 50 % de umidade) são secas sob vácuo a temperatura de 70 °C a 80 °C, obtendo-se a lecitina. Já a superdegomagem baseia-se no princípio de que a adição de ácidos fortes facilita a hidratação completa, se fornecido tempo de reação suficiente.

- Neutralização

A adição de solução aquosa de álcalis (NaOH ou Na₂CO₃) elimina do óleo os ácidos graxos livres e outros componentes definidos como impurezas. O processo é acompanhado por branqueamento parcial do óleo. A neutralização ocorre na interface do óleo e solução alcalina. Sendo essas fases não intersolúveis, a neutralização exige

uma dispersão de solução alcalina em óleo. O uso de Na_2CO_3 reduz a saponificação do óleo neutro ao mínimo, porém afeta a eliminação de fosfatídios, corantes e outras impurezas (MORETTO; ALVES, 1998).

Da neutralização forma-se um “sabão”, denominado borra (RBOS), que se separa por centrifugação. Pode haver arraste do óleo neutro pela borra e saponificação do óleo neutro pelo excesso de NaOH empregado.

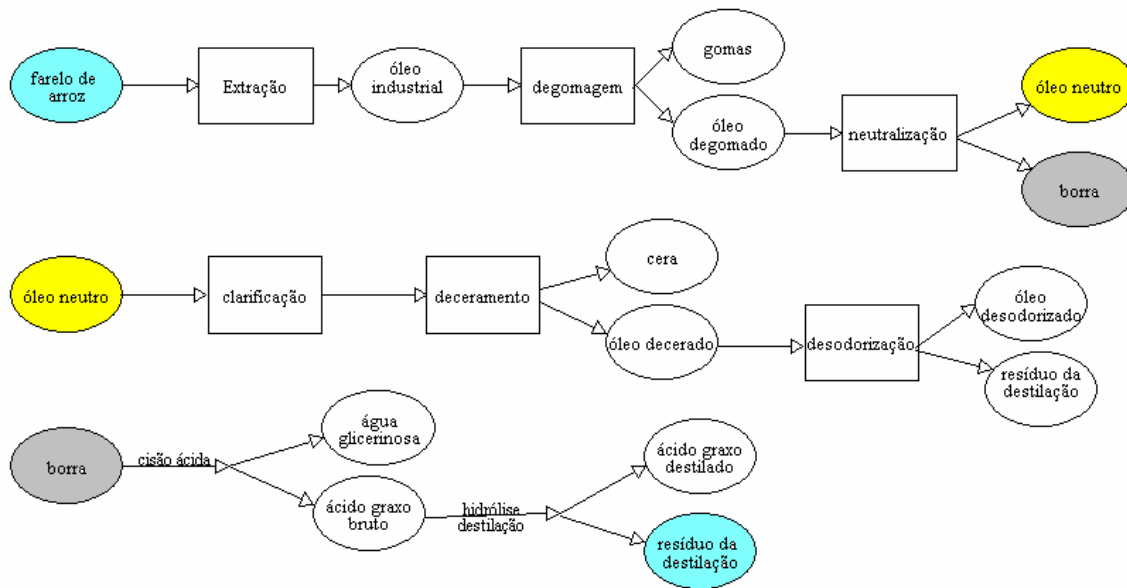
- Branqueamento

Os óleos e gorduras devem ser quase incolores, sendo isso feito pela adsorção dos corantes com terras clarificantes, ativadas ou naturais, misturadas, às vezes, com carvão ativado (na proporção de 10:1 a 20:1). As terras ativadas são preparadas de silicatos de alumínio, por aquecimento com HCl ou ácido sulfúrico, que remove quase todo cálcio e magnésio e parcialmente o ferro e o alumínio, seguido por lavagem com água, secagem e moagem (MORETTO; ALVES, 1998).

- Desodorização

A desodorização é o processo de remoção de voláteis responsáveis pelos aromas e odores do óleo. Os voláteis que produzem odores indesejados são removidos por coluna de destilação, com vapor de água em fluxo contracorrente. O óleo que sai dessa etapa já está apto ao consumo, devendo somente ser embalado adequadamente e distribuído (MORETTO; ALVES, 1998).

A Figura 4 apresenta o fluxograma industrial de produção do óleo de farelo de arroz, utilizado pela indústria IRGOVEL S.A., no Rio Grande do Sul.



Fonte: IRGOVEL.

Figura 4 Fluxograma do processamento do óleo de arroz.

A extração do óleo de farelo de arroz é atualmente um processo essencial para recuperação de componentes importantes presentes no farelo, como por exemplo ácidos graxos poliinsaturados, muito estudados por seus efeitos benéficos ao organismo, como redução dos níveis de colesterol do sangue e prevenção de doenças como a arteriosclerose e infarto do miocárdio (SAITO et al., 1994). Devido à perda de compostos importantes durante a extração e refino do óleo de arroz, vários estudos vêm surgindo, com o intuito de encontrar novas tecnologias capazes de diminuir as perdas nutricionais e gerar um óleo de melhor qualidade.

Pesquisas utilizando a extração supercrítica (ESC) do óleo de farelo de arroz estão sendo realizadas por diversos autores, devido às vantagens apresentadas, como a de não deixar resíduo de solvente no óleo extraído, não afetar compostos voláteis e não provocar alterações químicas nos compostos, sendo até mesmo possível separar os ácidos graxos insaturados do óleo, de acordo com o número de carbono, ao combinar a ESC com a cromatografia com fluido supercrítico (KIM et al., 1998).

Kuk e Down (1998) obtiveram óleo de arroz com excelente cor e alto teor de orizanol usando ESC, mostrando que o teor de esteróis no óleo extraído aumenta com a pressão e a temperatura, sendo que o processo pode ser melhorado usando o fracionamento com fluido supercrítico, produzindo óleo de farelo de arroz de alta qualidade.

Perreti et al. (2002) reportaram que a ESC utilizando dióxido de carbono como solvente supercrítico pode ser utilizada para produzir óleo de farelo de arroz e recuperar antioxidantes dos subprodutos do processamento do arroz. Zhao et al. (1987) mostraram que as frações de óleo de arroz obtidas a altas pressões contém menos ácidos graxos livres, ceras e insaponificáveis. Dunford et al. (2000) estudaram a desacidificação do óleo bruto de farelo de arroz, usando fracionamento com fluido supercrítico, determinando as condições para máxima remoção de ácidos graxos livres e minimizando a perda de fitoesteróis e triglicerídios durante o processo, mostrando ser possível desacidificar o óleo bruto sem perder fitoesteróis, sendo que o óleo obtido teve um teor três vezes maior de orizanol que o óleo comercial de farelo de arroz.

3.3.2 Borra de neutralização do óleo de farelo de arroz (RBOS)

O refino químico do óleo de farelo de arroz produz a RBOS. A borra típica contém cerca de 60 % a 70 % (p/p) de umidade, 20 % a 22 % (p/p) de sabão, 2 % a 2,5 % de glicerídeos e 7 % a 7,5 % de material insaponificável. A fração insaponificável contém aproximadamente 42 % de esteróis, 24 % de álcoois graxos superiores, 20 % de orizanol, 10 % de hidrocarbonetos e 2 % de outros compostos. Atualmente o principal uso da borra é para fabricação de sabão, em indústrias de detergentes e produtos de limpeza, sendo que pode ser usado para o isolamento de componentes terapeuticamente ativos como o orizanol e os tocoferóis. Devido à grande quantidade de orizanol presente na RBOS existe uma oportunidade comercial de produção de orizanol a partir desse subproduto, dado o grande interesse mundial no orizanol devido seus efeitos benéficos à saúde humana (NARAYAN et al., 2006).

3.4 Antioxidantes

A deterioração do alimento com o tempo em razão da sua natureza biológica é inevitável. Durante a produção, processamento, distribuição e armazenamento, ocorrem várias reações de deterioração envolvendo microrganismos e processos químicos. Estes últimos são representados pela oxidação enzimática e não-enzimática de lipídios e de substâncias fenólicas, promovendo alterações indesejáveis

de odor, aparência, características físicas, valor nutritivo e na formação de compostos tóxicos (ARAÚJO, 2001).

Os agentes antioxidantes são usados na indústria farmacêutica e na formulação de cosméticos para a prevenção de deteriorações autooxidativas dos lipídios presentes em materiais vivos; os antioxidantes são introduzidos como constituinte primário em cosméticos utilizados na neutralização de radicais livres produzidos pela luz ultravioleta e poluentes ambientais envolvidos nos processos de envelhecimento da pele (LUPO, 2001).

Durante a oxidação de ácidos graxos insaturados, via mecanismo de formação de radicais livres, os hidroperóxidos são os primeiros produtos formados, os quais se degradam liberando novos radicais livres e promovendo a continuidade da oxidação do óleo ou gordura, além da formação de diferentes aldeídos voláteis. O efeito do antioxidante consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formarem radicais livres e produtos de decomposição rançosos (ARAÚJO, 2001).

Um bom antioxidante deve ser seguro, não conferir cor, odor ou sabor ao produto, ser eficaz em pequena concentração e de fácil incorporação, resistir ao processamento, ser estável no produto acabado e disponível em baixo custo (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1986).

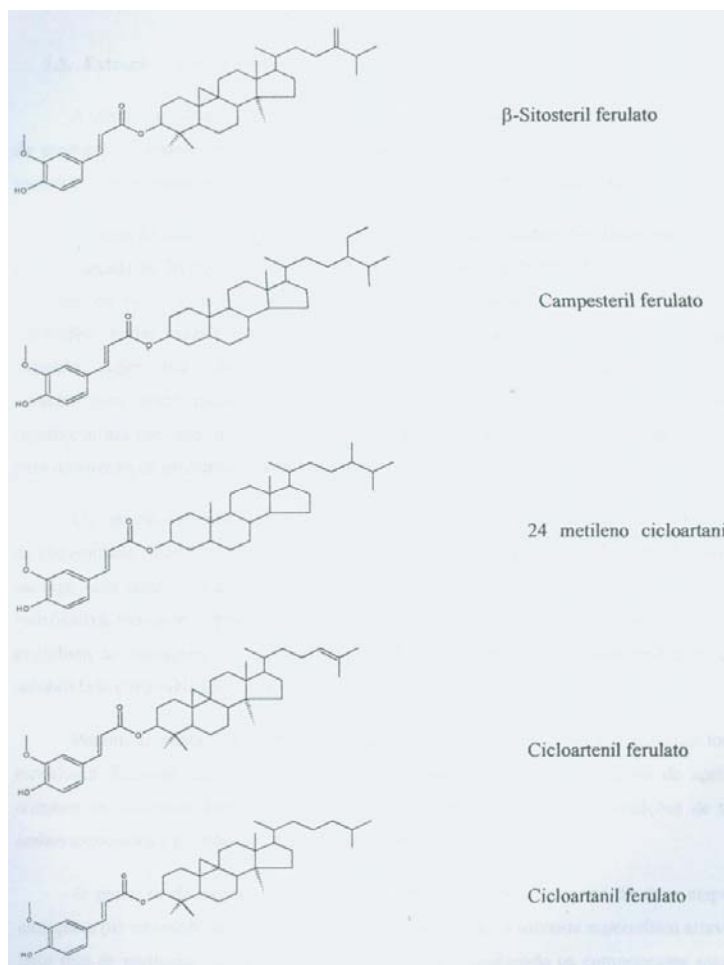
Segundo a Food and Drugs Administration (FDA), antioxidantes são definidos como substâncias utilizadas para preservar alimentos, retardar a deterioração, rancidez ou a descoloração, devido o processo de oxidação (ADEGOKE et al., 1998). Dentre as substâncias aprovadas como antioxidantes para alimentos o butilhidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitolueno (BHT) estão entre os de uso mais amplo em inúmeros produtos lipídicos, apresentando boa resistência a processos de forneamento. O t-butilhidroquinona (TBHQ) é efetivo na estabilização de óleos altamente insaturados e eficiente se submetido à fritura (SARMENTO, 2002).

Estudos realizados mostraram que a adição de 2 % a 5 % de óleo de arroz, processado especialmente para reter γ -orizanol, ao óleo de soja desodorizado, aumenta a estabilidade do óleo, agindo como um sistema de multicomponentes de antioxidantes naturais, enquanto que a adição de 0,1 % do óleo de arroz com alto teor de γ -orizanol ao leite em pó diminui significativamente a oxidação do mesmo, comprovando o potencial antioxidante do γ -orizanol (NANUA et al., 2000).

3.5 Orizanol

O γ -orizanol foi inicialmente encontrado no óleo de arroz em 1954. Como foi isolado do óleo obtido a partir do arroz (*Oryza sativa*) e continha um grupo hidroxila em sua estrutura, foi convenientemente chamado de orizanol. Estudos posteriores revelaram que o orizanol não é um composto simples e sim uma mistura de ésteres do ácido ferúlico (GRAF, 1992).

O γ -orizanol é caracterizado como um pó branco ou levemente amarelo, cristalino, insípido, com pouco ou nenhum odor. Definido como uma mistura de ésteres do ácido ferúlico com esterol ou álcoois triterpênicos. Consiste principalmente de cicloartenil ferulato, 24-metileno-cicloartanil ferulato, campesteril ferulato, β -sistoteril ferulato e cicloartanil ferulato (EVERSHED et al., 1988), cujas estruturas estão representadas na Figura 5, mas inclui também outros componentes menores como estigmastenil ferulato, campestenil ferulato e sitostanil ferulato (XU; GODBER, 1999), pois dependendo da técnica cromatográfica utilizada, diferentes componentes têm sido identificados.



Fonte: JAHN, 2004.

Figura 5 Principais compostos constituintes do γ -orizanol.

O conteúdo de γ -orizanol no óleo de farelo de arroz bruto está na faixa de 1 % a 2 % (SCARAVIELLO, 2002). Componentes de γ -orizanol também foram isolados de grãos de milho, trigo e cevada (SEITZ, 1989, MOUREAU et al., 1996), porém o óleo de farelo de arroz é a fonte natural mais acessível para recuperação deste composto (DAS et al., 1998).

A atividade antioxidante do γ -orizanol pode ser atribuída principalmente ao ácido ferúlico. Este esterificado com esteróis de plantas, como é o caso do γ -orizanol, aumenta o potencial antioxidante promovendo acesso molecular a componentes hidrofóbicos que são mais susceptíveis à destruição celular oxidativa (GRAF, 1992), pois o potencial antioxidante aumenta com a extensão da hidroxilação dos anéis aromáticos.

O γ -orizanol tem sido utilizado no Japão para conservar óleos, alimentos e bebidas na forma de uma mistura sinérgica com a vitamina E e também em fórmulas medicinais e cosméticas (TSUNO, 1995).

Segundo IRGA (2005), o γ -orizanol possui diversos efeitos benéficos à saúde podendo ser utilizado pelas indústrias de fármacos para formulações de medicamentos capazes de prevenir e combater diversas doenças. Dentre os efeitos do γ -orizanol, esta fonte cita:

- Efeitos benéficos no crescimento;
- Combate doenças cefálicas e cervicais;
- Minimiza sintomas da menopausa;
- Combate à anemia;
- Tratamento de úlceras do estresse;
- Coadjuvante no tratamento de doenças circulatórias;
- Usado como medicamento, em composição de cosméticos, como agente antienvhecimento da pele e como filtro solar;
- Tendo efeito semelhante a hormônios (esteróides) é usado na alimentação de cavalos de corrida, por ser seguro e legalmente permitido.

A solubilidade do γ -orizanol em metil-etil-cetona é aproximadamente 20 %. O γ -orizanol é praticamente insolúvel em água. A Tabela 4 apresenta a solubilidade do γ -orizanol em diversos solventes.

Tabela 4 Solubilidade do γ -orizanol.

Solvente	Solubilidade (20 °C) (g/L)
Água	0,1
Etanol	1,3
Metanol	1,4
n-Hexano	2,8
n-Heptano	4
Benzeno	40
Acetona	67
Clorofórmio	100
Metil-etil-cetona	200

Fonte: TSUNO CO, 1995.

Juliano et al. (2005) investigaram o poder antioxidante do γ -orizanol, comparando com antioxidantes sintéticos, como BHA e BHT, confirmando seu potencial como antioxidante natural, estabilizando óleos e gorduras. Embora o orizanol não tenha apresentado propriedades antioxidantes excepcionais, ele pode ser usado em associação com outros antioxidantes naturais, obtendo misturas capazes de superar os estabilizantes sintéticos mais comumente usados. Essa característica é muito interessante, visto que o mesmo possui outras atividades biológicas, podendo ser usado, assim, como um ingrediente multifuncional para formulações farmacêuticas, cosméticas e para alimentos (JULIANO et al., 2005).

3.6 Extração supercrítica

A extração supercrítica vem sendo utilizada com muito sucesso para obtenção de produtos de grande interesse para os setores alimentício, químico e farmacêutico. É uma tecnologia que se destaca pela rapidez do seu processo de extração e baixo custo de solvente (JAHN, 2004).

A técnica de extração empregada na elaboração de derivados de plantas medicinais ou de compostos de alto valor agregado de diferentes produtos naturais é fundamental para a definição da qualidade do produto. Os processos convencionais de

extração são hidrodestilação e extração com solventes orgânicos, operações possivelmente responsáveis pela degradação térmica de componentes termolábeis presentes na matéria-prima e pela contaminação do extrato com resíduos de solvente, normalmente empregado em quantidades excessivas. Aliado a isto, a competitividade da área de fitoterápicos, que tem como fatores fundamentais à conquista de mercados, a qualidade, a disponibilidade e o preço, sinalizam para a importância do emprego de técnicas modernas de extração (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Como uma possível alternativa, muitos estudos têm sido realizados com CO₂, próximo ao ponto crítico, como um solvente para extração de oleoresina de vários componentes naturais (RODRIGUES et al., 1997). Estas técnicas incluem processos como a ESC, utilizando fluidos em condições próximas ou acima de seu ponto crítico como solventes de extração e seu emprego em processos industriais vem ganhando espaço, principalmente devido aos fatores ambientais e de qualidade envolvidos. Trata-se de um processo livre de resíduos tóxicos e não provoca a degradação térmica dos extratos, como ocorre em processos de destilação (BRUNNER, 1994; MARTÍNEZ et al., 2004).

Os conceitos de eficiência e seletividade foram propulsores para o crescente interesse da comunidade científica e do setor industrial em relação aos processos de extração supercrítica, ou seja, uma tecnologia alternativa que visa resolver problemas de separação. Como principal justificativa, indica-se propriedades dos fluidos supercríticos, que englobam as vantagens dos fluidos nos estados líquido e vapor, simultaneamente, quanto à solubilidade e transporte (BRENNECKE; ECKERT, 1989).

A extração com fluidos supercríticos em escala industrial teve seu início na Alemanha, no final da década de 70 (MOORE et al., 1994) com o processo de descafeinização do café. Isto foi resultado da evolução tecnológica, que exige um contínuo desenvolvimento dos processos de separação, muitas vezes provocando a substituição dos processos tradicionais. Os processos de extração supercrítica classificam-se neste ciclo evolutivo, destacando-se as seguintes características: considerada uma tecnologia limpa que não deixa resíduo, utiliza solventes não tóxicos, não altera as propriedades das matérias-primas e é utilizada para extração de produtos de alta qualidade. Porém, as vantagens apresentadas não significam que se tenha um domínio total desta tecnologia. Existem deficiências que devem ser analisadas com o objetivo de aprimorar e otimizar os processos. Dentre elas cita-se o investimento inicial e as condições de trabalho, ambos associados à pressão de operação do sistema (SUTTER et al., 1994).

Alguns exemplos de processos que utilizam a extração com fluido supercrítico são a remoção de nicotina do tabaco, da cafeína do café e chás, do lúpulo para fabricação de cerveja, a extração de óleos de sementes oleaginosas, extração de lipídios como colesterol, extração de aromas e condimentos e a extração de compostos voláteis do carvão. Além destas aplicações, a ESC de óleos voláteis e oleoresinas, têm recebido muita atenção nas duas últimas décadas (CARVALHO JÚNIOR, 2004). Extração de óleos e gorduras com CO₂ supercrítico de uma grande variedade de fontes naturais, como diferentes tipos de sementes, temperos, produtos cárneos, produtos marinhos, entre outros, tem sido relatada amplamente na literatura (VAQUERO et al., 2006).

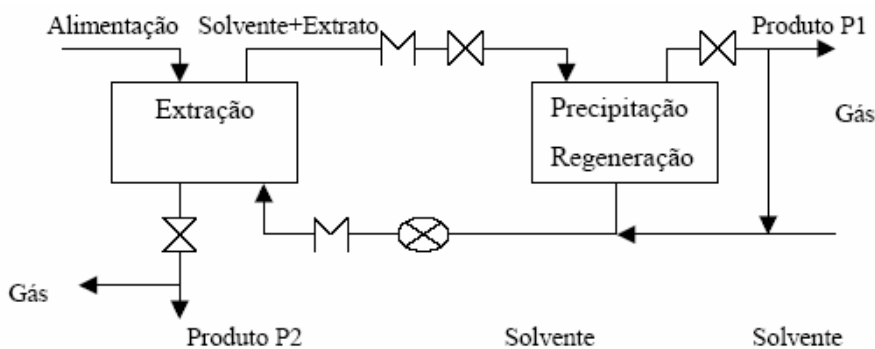
A ESC é o processo baseado no contato entre uma matéria-prima e um solvente pressurizado, removendo os compostos de interesse da fase sólida (FERREIRA et al., 1999; MARTÍNEZ et al., 2003). Uma vantagem da ESC é a possibilidade de fácil recuperação do solvente após o processo de extração, apenas pelo ajuste de pressão e/ou temperatura, podendo o mesmo ser continuamente reciclado. Isto elimina uma das etapas mais dispendiosas dos processos de extração convencionais que é a separação entre produto extraído e solvente orgânico (BRUNNER, 1994).

Na prática o estado supercrítico é obtido com o aumento da temperatura e da pressão de um gás ou líquido, de forma que se altere o estado de agregação e, como consequência, as propriedades da substância de interesse (LANÇAS e RUGGIERO, 2000). A extração com fluidos supercríticos emprega solvente acima ou próximos de suas temperatura e pressão crítica (BRUNNER, 1994).

As propriedades dos fluidos supercríticos com maior importância para a extração são a densidade, a viscosidade e o coeficiente de difusão que tomam valores que se aproximam dos valores de líquido, no caso da densidade e valores próximos dos dos gases, no caso da viscosidade e do coeficiente de difusão. Estas propriedades, particularmente a densidade, podem ser alteradas com pequenas variações de pressão e temperatura, permitindo o fracionamento do extrato. Na zona próxima ao ponto crítico é onde se produzem, com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações da densidade do fluido supercrítico, e por consequência do seu poder solvente (BERNARDO-GIL et al., 2002).

O processo de extração supercrítica de matrizes sólidas consiste de duas etapas, conforme a Figura 6: a extração e a separação do extrato do solvente. Na extração, o solvente supercrítico atravessa um leito fixo de partículas sólidas, de

maneira contínua, dissolvendo os componentes solúveis da matriz. O solvente é alimentado no extrator e distribuído uniformemente no interior do leito fixo. A separação solvente/soluto é obtida pela redução de poder de solvatação do solvente, ou seja, por uma redução de pressão ou aumento de temperatura (BRUNNER, 1994).



Fonte: BRUNNER, 1994.

Figura 6 Fluxograma de extração supercrítica de matrizes sólidas.

A extração de solutos presentes em sólidos, com o emprego de gases pressurizados, consiste na solubilização e posterior separação da mistura soluto/solvente. Durante o processo de extração o solvente supercrítico escoava através de um leito fixo, constituído de partículas sólidas, dissolvendo os componentes solúveis. O esgotamento do sólido ocorre na direção do escoamento, enquanto a massa de extrato na fase solvente aumenta na mesma direção. O solvente alimentado no extrator atravessa o leito fixo e carrega consigo o soluto, que na saída do extrator, é precipitado através da simples expansão do solvente (BRUNNER, 1994).

Brunner (1994) observou que, durante a extração dos componentes solúveis de um produto natural, ocorre:

- A matriz sólida absorve o solvente supercrítico. Como consequência, a estrutura celular dilata-se, sendo que a resistência ao transporte de massa diminui;
- Paralelamente, os componentes solúveis presentes na matriz são dissolvidos pelo solvente. Nessa etapa podem ocorrer reações químicas;

- Os componentes solubilizados pelo solvente são então transportados para a superfície do sólido. Nesta etapa a difusão é o mecanismo de transporte mais importante. Estes componentes, agora dissolvidos, formam a fase fluida e escoam para a saída do extrator.

O pré-tratamento da matéria-prima vegetal antes da formação do leito de extração envolve, entre outros processos, a moagem da estrutura da qual o soluto será retirado. Este procedimento visa, a princípio, reduzir o tamanho das partículas do sólido, de forma que a área de contato entre este e o solvente seja aumentada. No entanto, outra consequência da moagem é o rompimento das estruturas celulares que contém o soluto, de forma que parte deste fica livre para o contato com o solvente (MARTÍNEZ, 2005).

Brunner (1994) cita que a “razão de solvente”, definida como a razão entre a vazão mássica de solvente e a massa de sólidos, é um dos fatores mais relevantes para o processo de extração. O aumento da vazão mássica de solvente para uma quantidade fixa de sólidos pode resultar em uma redução da carga do solvente, devido a um menor tempo de residência. No entanto, devido à maior vazão, a velocidade de extração tende a aumentar até um valor máximo a partir do qual pode sofrer um declínio.

A resistência à transferência de massa no interior das partículas sólidas na maioria das vezes é dominante no processo. Para reduzi-la e, conseqüentemente, aumentar o rendimento de extração, deve-se reduzir o tamanho das partículas de modo a aumentar a área de contato sólido/solvente e diminuir a distância que o soluto deve percorrer no interior da partícula porosa. Partículas grandes fornecem espaços para que o solvente flua entre as diferentes capas de partículas. Pequenas partículas são, aproximadamente, lâminas achatadas, formando capas densas, as quais não permitem a formação de canais para o escoamento de fluidos. A redução da granulometria do sólido não pode ser realizada indefinidamente, pois partículas muito pequenas podem formar aglomerados e interromper a passagem do solvente pelo leito, formando caminhos preferenciais deste na matriz (BRUNNER, 1994).

3.6.1 CO₂ supercrítico

O solvente utilizado na extração com fluido supercrítico deve apresentar os seguintes requisitos: possuir bom poder de solvatação, ser inerte e facilmente separado do produto, relativamente barato, deve ter pressão e temperatura críticas amenas por razões econômicas. O uso do dióxido de carbono como solvente no processo de extração supercrítica, além de apresentar estes requisitos pode ser comumente empregado na indústria de alimentos e de aromas por ser não tóxico, não carcinogênico e não inflamável (BRUNNER, 1994; VAQUERO et al., 2006).

Assim, o CO₂ apresenta as seguintes vantagens (MICHIELIN, 2005; VAQUERO et al., 2006):

- Temperatura crítica de 31,04 °C e pressão crítica de 73,8 bar: fáceis de obter e trabalhar em um processo de produção industrial com baixo custo de aquecimento e compressão;
- Inerte: não oferece riscos de reações secundárias, como oxidações, reduções, hidrólises e degradações químicas;
- Seguro: é um material não inflamável, não corrosivo, não tóxico e não poluente, considerado um “solvente verde”;
- Barato e disponível em alta pureza;
- Versátil: a seletividade da extração pode ser modificada facilmente pela adição de pequenas quantidades de outros produtos, chamados de co-solventes e também pela seleção das condições de temperatura e pressão específicas; essas opções adicionam flexibilidade e permitem a adequação de condições de extração para as necessidades específicas dos produtos a serem extraídos e ao produto final desejado.

O CO₂ supercrítico é essencialmente um solvente apolar, e seu poder de solvatação varia com a densidade. Permite extrair grande variedade de compostos lipofílicos, como hidrocarbonetos, éteres, ésteres, cetonas, dependendo da pressão aplicada (ARAÚJO, 1999). Seu principal inconveniente é a apolaridade que o faz um solvente pobre para a extração de solutos polares (VAQUERO et al., 2006).

Um co-solvente líquido pode ser adicionado ao CO₂ supercrítico para aumentar seu poder de solvatação para moléculas polares. Vários autores adicionaram

quantidades pequenas de solventes líquidos (por exemplo, álcool etílico) que é misturado com o CO₂ supercrítico. Quando em solução, os co-solventes modificam o poder de solvatação do CO₂, permitindo extrair substâncias polares, como açúcares, aminoácidos, glicosídeos, e proteínas. Esta estratégia tem a desvantagem que, um maior poder de solvatação também pode significar menor seletividade do processo, pois o co-solvente é líquido a pressão atmosférica, sendo coletado no separador junto com o óleo. Assim, um processo subsequente para eliminação de solvente é requerido (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Existem outros gases que também têm propriedades solventes interessantes no seu estado supercrítico. Por exemplo, hidrocarbonetos como hexano, pentano e butano, óxido nitroso, hexafluorido de enxofre e hidrocarbonetos fluoretados. Entretanto, por razões de custo, perigo de explosão, toxicidade, inflamabilidade e propriedades físicas adversas, poucos são usados comercialmente (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

3.6.2 Curva de extração

O estudo da curva de extração para um determinado processo pode ajudar a definir o volume do extrator e a vazão requerida de solvente para a taxa de extração desejada (CARVALHO JUNIOR, 2004). Isso se dá através do conhecimento termodinâmico do sistema (solubilidade e seletividade) bem como a cinética do processo (taxa de transferência de massa) (FERREIRA; MEIRELES, 2002). As curvas de extração são determinadas pela massa de extrato obtida em função do tempo ou da massa de solvente utilizada (BRUNNER, 1994). A Figura 7 apresenta uma curva típica de extração.



Fonte: BRUNNER, 1994.

Figura 7 Curva típica de extração.

A típica curva de extração demonstrada na Figura 6 é caracterizada por três períodos (BRUNNER, 1994; SOVOVÁ, 1994):

- a) Período de taxa constante de extração (CER), onde a superfície externa do sólido está completamente recoberta de soluto;
- b) Período de taxa decrescente de extração (FER), onde aparecem falhas nas camadas superficiais de soluto que recobrem o sólido;
- c) Período difusional, caracterizado pela difusão da mistura soluto/solvente no sólido.

A curva de extração pode ser utilizada para determinar parâmetros de processo como: tempo total de extração, caracterização das etapas da extração, determinação da solubilidade experimental e modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2004).

As curvas de extração são obtidas através da seguinte relação (CAMPOS et al., 2005), conforme a Equação (1):

$$m = Q_{CO_2} \int_0^{t_{TOTAL}} Y(t) dt \quad (1)$$

Onde: m = massa de extrato obtida em kg; Q_{CO_2} = a vazão de solvente ($kg \cdot s^{-1}$); t = tempo (s); $Y(t)$ = concentração de soluto na fase solvente (kg de soluto/kg de solvente).

3.6.3 Rendimento

O rendimento de um processo de ESC pode ser expresso pela razão entre a massa de extrato obtida e a massa de matéria-prima usada. Esta forma de definir o rendimento, no entanto, pode levar à interpretações erradas sobre um processo. De um modo geral, na ESC a partir de matérias-primas vegetais usando CO_2 como solvente, a porcentagem de material extraível é da ordem de 1 % a 10 % (MARTÍNEZ et al., 2005).

Assim, o rendimento global de extração (X_0), é definido como a quantidade total de óleo extraível do material sólido em condições pré-estabelecidas, principalmente de temperatura e pressão utilizadas na extração. A quantidade total de óleo extraível é composta pela soma do óleo de fácil acesso, removido do sólido a uma taxa constante de extração e do óleo de difícil acesso, que é extraído numa segunda etapa da extração, controlada pela resistência interna à transferência de massa (SOVOVÁ, 1994).

O valor de X_0 não depende apenas das características da matéria-prima, mas também da forma com que os compostos nela presentes interagem com o solvente. Isto significa que as propriedades do solvente também influenciam no valor de X_0 . Entre estas propriedades está a densidade do solvente que afeta diretamente o seu poder de solvatação (RODRIGUES et al., 1996).

O rendimento global, ou o valor de X_0 , pode ser definido termodinamicamente como uma propriedade intensiva, uma vez que, para um determinado sistema, depende apenas da temperatura e da pressão, mas não da quantidade de matéria-prima ou de solvente utilizado (MARTÍNEZ, 2005).

3.6.4 Modelagem

A modelagem matemática de curvas de ESC é empregada por vários autores com o objetivo de reproduzir dados experimentais existentes, e a partir deles ajustar parâmetros de processo que permitam a simulação das operações de extração em outras escalas e em outras condições operacionais (MARTÍNEZ, 2005).

Existe um grande número de modelos matemáticos presentes na literatura para a extração de óleos com CO₂ pressurizado. O processo de extração pode ser analisado e modelado de uma forma simples, considerando apenas valores médios dos parâmetros de extração e ajustando o modelo à dados experimentais para determinar os coeficientes desconhecidos. Para uma modelagem mais completa é necessário realizar uma análise aprofundada do mecanismo de extração, considerando fatores como difusão intraparticular, dispersão axial e radial, transferência de massa através da interface sólido/fluido, resistência à transferência de massa devido a reações químicas e transições de fase (BRUNNER, 1994).

Um modelo não deve ser apenas um instrumento matemático, mas deve refletir a visão física da estrutura sólida e das observações experimentais. Modelos matemáticos, os quais não têm correspondência física com o material e o processo estudado, são de validade limitada embora possam ser usados para ajustar alguns dados experimentais. Para a modelagem da extração supercrítica têm sido propostas três abordagens diferentes: (1) empírica, (2) baseada na analogia da transferência de calor e massa, (3) integração do balanço de massa diferencial. A partir da integração das equações diferenciais de balanço de massa os perfis de concentração em função do tempo são obtidos para as fases fluida e sólida. A curva de extração é calculada a partir da concentração na fase fluida na saída do extrator (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Martínez et al. (2003) propôs um modelo matemático que pode ser aplicado considerando o extrato como um único pseudocomposto ou como uma mistura de substâncias ou grupos de compostos de estrutura química similar. O acúmulo e a dispersão na fase fluida são negligenciados porque esses fenômenos não têm influência significativa no processo quando comparados aos efeitos de convecção. O modelo proposto foi aplicado para a extração supercrítica de oleoresina de gengibre. Quando o soluto é considerado como um pseudocomponente, a massa de soluto pode ser descrita conforme a Equação (2).

$$m_{\text{ext}}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp[b(t_m - t)]} - 1 \right\} \quad (2)$$

Sendo: $m_0 = x_0 m_t$

Onde: m_{ext} é a massa de extrato (g), m_0 é massa inicial total de soluto no leito de extração(g), t é o tempo de extração (s), b e t_m são parâmetros ajustáveis do modelo.

O modelo de placa (SSP), proposto por Gaspar et al. (2003), apresentado na Equação (3), também considera a transferência de massa como uma analogia à transferência de calor como o modelo de difusão. A diferença entre estes dois modelos é que no modelo SSP as partículas sólidas são consideradas como placa enquanto que no modelo de difusão as partículas são consideradas esféricas.

$$m_{\text{ext}} = m_0 \left[1 - \sum_0^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2} \exp\left(\frac{-D_m(2n+1)^2 \pi^2 t}{\delta^2}\right) \right] \quad (3)$$

Onde: m_{ext} é a massa de extrato (g), m_0 é o conteúdo inicial de soluto na fase sólida (g), D_m representa a difusividade na matriz sólida (m^2/min), δ é a espessura das partículas (placas) (m).

Esquível *et al.*, (1999) avaliaram três modelos matemáticos para a simulação das curvas de extração de casca de azeitonas, dois deles baseados no balanço diferencial de massa e um empírico baseado na equação da cinética de crescimento microbiano. A equação empírica que representa a curva de extração aplicada para ajustar o óleo de casca de azeitona está apresentada na Equação (4):

$$m(t) = X_0 F\left(\frac{t}{B+t}\right) \quad (4)$$

Onde: $m(t)$ é a massa de extrato em função do tempo (kg); t é o tempo de extração (s); F é a massa de matéria-prima (kg); X_0 é a razão mássica inicial de soluto na fase sólida (kg/kg) e B é um parâmetro ajustável (s).

3.7 Produção de orizanol

Durante o desenvolvimento de um processo de larga escala, é fundamental considerar produtividade (tempo e requerimento de recursos humanos), problemas relacionados à segurança e saúde, e, o investimento em operações (equipamentos e recuperação de solventes), confrontando com a eficiência de separação (pureza e rendimento do produto) (NARAYAN et al., 2006). Para isolar o orizanol deve-se levar em conta a complexidade de sua purificação devido a grande quantidade de compostos que interferem nas etapas de sua purificação (DAS, et al, 1998).

3.7.1 Complexidades na extração do orizanol

A produção, que envolve isolamento e purificação de orizanol apresenta alguns problemas, que são raramente discutidos, devido à quantidade de compostos que interferem durante sua lixiviação, extração e cristalização (NARAYAN et al., 2006).

Os problemas encontrados durante a extração do orizanol são geralmente devidos às variações na composição da borra, que incluem impurezas com superfície ativa como os sabões, fosfolípidios, ceras e glicolipídios. As condições do processamento usado durante o refino do óleo e a variação sazonal na composição da semente, ditam o tipo e a quantidade de impurezas extraídas com a RBOS. Assim, a quantidade de impurezas individuais que são removidas varia entre as RBOS. Portanto, nem sempre um procedimento desenvolvido para um determinado tipo de RBOS funcionará bem para outros tipos. As impurezas também afetam as condições do processo e dificultam o equilíbrio das etapas do processo de separação, como a extração, isolamento e purificação (NARAYAN et al., 2006).

Durante o refino alcalino do óleo de farelo de arroz, uma significativa quantidade de óleo é retida com a RBOS. Quando o sabão é centrifugado, o óleo

também é centrifugado, sendo que uma quantidade significativa de orizanol é removida com o óleo para a RBOS (NARAYAN et al., 2006).

3.7.2 Impurezas que interferem na extração do orizanol

O conhecimento dos tipos de impurezas associadas com o orizanol na RBOS do óleo de farelo de arroz é essencial no desenvolvimento de um processo de larga escala para o isolamento de orizanol. As principais impurezas removidas incluem ácidos graxos livres, sabão, glicerinas, fosfolipídios, ceras, esteróis, glicolipídios, material resinoso, derivados do tocoferol e pigmentos (NARAYAN et al., 2006).

- *Sabões*

A RBOS resultante do refino químico do óleo de farelo de arroz contém de 65 % a 70 % (p/p) de sais de sódio de ácidos graxos livres. São solúveis em metanol, mas insolúveis em acetatos e acetona. Característica contrária ao orizanol, o qual é insolúvel em solventes polares, como a água, e solúvel em solventes apolares, como o hexano. Essa diferença de solubilidade entre o orizanol e os sabões é a base para a separação destes através de extração (SASKA; ROSSITER, 1998).

- *Glicerídeos*

Geralmente presentes na forma de triacilglicerídios (TAG) são solúveis na maioria dos solventes orgânicos, como hexano, álcool isopropílico, clorofórmio e acetato de etila. Uma estratégia para remover esses compostos é saponificar a RBOS, em meio alcalino, tornando os TAG em sabões de sódio, removendo posteriormente o orizanol por lixiviação (SASKA; ROSSITER, 1998; SEETHARAMAIAH; PRABHAKAR, 1986).

- *Fosfolipídios (gomas)*

A proporção de gomas presentes na RBOS dependem da eficiência do processo de degomagem, sendo um dos principais interferentes na separação entre o orizanol e a RBOS, devido, provavelmente, a sua alta atividade surfactante. Durante

as extrações com solvente, as gomas estabilizam as microemulsões entre o solvente e a RBOS, diminuindo a taxa de separação de fases (NARAYAN et al., 2006).

- *Ceras*

Não apresentam muitos problemas durante o isolamento do orizanol, porém formam emulsões estáveis durante o refino do óleo diminuindo o seu rendimento. São insolúveis em acetona, acetato de etila, hexano e ácido isopropílico, porém são solúveis em hexano aquecido, podendo assim dificultar a extração do orizanol da RBOS (NARAYAN et al., 2006).

- *Esteróis*

Constituem a maior porção dos materiais insaponificáveis da RBOS. Durante o refino alcalino, quantidades significantes de esteróis provenientes do óleo são extraídos para a RBOS. As condições do processo de isolamento do orizanol promovem reações químicas dos esteróis, como hidrólise, oxidação, desidrogenação e isomerização. Temperatura, pH e tempo do processo contribuem na taxa de degradação do esterol (NARAYAN et al., 2006).

- *Material resinoso*

São formados pela polimerização das ceras. Este material pode ser saponificado a triacontanol e sabões. Estes interferem principalmente nos processos de purificação do orizanol por cromatografia, adsorvendo-se fortemente no suporte junto com o orizanol, e na cristalização, interrompendo o crescimento dos cristais de orizanol (NARAYAN et al., 2006).

- *Tocoferóis e derivados*

Outras impurezas no óleo do farelo de arroz carregadas para a RBOS são os derivados do tocoferol. Estes componentes são separados do orizanol geralmente por cromatografia de fase normal e HPLC (ROGERS et al., 1993).

- Pigmentos

O óleo de farelo de arroz contém pigmentos como clorofila, carotenóides e produtos da degradação protéica. Se estas impurezas não forem removidas durante o branqueamento, elas serão carregadas para a RBOS durante o refino alcalino (GUHE; BHOWMICK, 1998).

3.7.3 Tecnologias de extração de orizanol

3.7.3.1 Processos baseados na extração

A purificação do orizanol é composta por duas etapas: lixiviação do orizanol da RBOS seca; e lixiviação das impurezas da fração enriquecida de orizanol (NARAYAN et al., 2006). Lixiviação é a operação mais simples para separação e purificação do orizanol da RBOS. Consiste na extração dos componentes solúveis de uma fase sólida insolúvel e permeável, usando um solvente específico. Outra forma de procedimento da lixiviação é através da saponificação da RBOS, transformando-o num segundo sabão, removendo assim menos impurezas junto com o orizanol (SEETHARAMAIAH; PRABHAKAR, 1986).

3.7.3.2 Extração Líquido-Líquido (LLE)

O desempenho dos processos baseados na extração líquido-líquido depende principalmente do diferencial de divisão do orizanol e dos outros componentes da RBOS entre as fases de dois líquidos imiscíveis. Os critérios para seleção das duas fases e as condições para a LLE se baseiam no diferencial de divisão entre o produto e as impurezas entre as fases e a rápida separação das fases após a mistura dos líquidos (NARAYAN et al., 2006).

3.7.3.3 Extração supercrítica (ESC)

A extração supercrítica do óleo de farelo de arroz com CO₂ possui certas vantagens, visto o baixo custo do CO₂ e a segurança tanto em produtos alimentícios

como ao ambiente (DUNFORD et al., 2000). Estudos recentes mostram que o rendimento de orizanol no óleo usando ESC é maior que os conseguidos utilizando a extração com solventes, usando diferentes solventes e condições de processo (XU; GODBER, 2000). No entanto não existem relatos utilizando o material insaponificável do óleo de farelo de arroz como material de alimentação para ESC (NARAYAN et al., 2006).

3.7.3.4 Métodos baseados na cristalização ou precipitação

Durante a cristalização, os parâmetros considerados são a temperatura do solvente ou mistura de solventes e taxa de crescimento dos cristais, sendo o princípio baseado na diferença de solubilidade entre o orizanol e as impurezas contidas na RBOS nas misturas de solventes em diferentes temperaturas. A maioria das patentes relacionadas com a cristalização do orizanol não deixa clara a pureza e o rendimento de orizanol obtido (NARAYAN et al., 2006).

3.7.4 Métodos patenteados de produção de orizanol

Atualmente existem diversas patentes de produção de γ -orizanol, sendo que a maioria requer o uso de múltiplos processos para purificação do mesmo. Alguns métodos utilizados são: utilização de solventes orgânicos seletivos para extrair o orizanol, seguido de purificação cromatográfica (NARAYAN et al., 2006); isolamento do orizanol do óleo de arroz bruto por precipitação das estearinas com sulfato de alumínio seguido de cristalização do orizanol; separação de γ -orizanol em alta concentração do óleo de farelo de arroz através de tratamento alcalino (NARAYAN et al., 2006); recuperação de orizanol do óleo de farelo de arroz degomado e decerado com sílica, em coluna cromatográfica, seguido de cristalização do orizanol com n-heptano (SASKA; ROSSITER, 1998); isolamento do orizanol por transesterificação do óleo de farelo de arroz com metanol e ácido sulfúrico seguido por purificação em coluna cromatográfica preenchida com Amberlite IRA-401, usando mistura dos solventes metanol e éter como eluente (JP 8295942, 1982 citado por RAO et al., 2002).

Outro método de purificação de orizanol consiste na utilização da RBOS obtida na neutralização do óleo de farelo de arroz. Esse método consiste na saponificação

total da RBOS, seguido pelos processos de aeração e secagem da mesma para obter um sabão poroso. Este sabão é submetido à extração com solvente orgânico para remoção da parte insaponificável. Após essa etapa utiliza-se uma solução de solventes para remoção das ceras presentes e cristaliza-se o material insaponificável para remoção de impurezas. Este material cristalizado é submetido à coluna cromatográfica para obtenção de uma fração rica em orizanol. Esta fração enriquecida é recristalizada, utilizando solvente orgânico, para obtenção de orizanol puro (RAO et al., 2002).

Existem pesquisas sendo realizadas para obtenção de óleo de farelo de arroz com maior teor de orizanol e outros compostos nutricionalmente importantes, estes estudos visam diminuir a perda desses compostos, empregando novas tecnologias para extração e refino do óleo.

Xu e Godber (2000) compararam diversos solventes orgânicos e extração supercrítica para obtenção de óleo rico em orizanol. Sendo que a mistura de solventes isopropanol e hexano foi a que obteve maior rendimento de orizanol no extrato, porém essa concentração foi quatro vezes menor que a encontrada quando o óleo foi extraído supercríticamente do farelo, usando CO₂ como solvente a 50 °C e 680 bar.

Dunford et al., 2002, utilizaram a técnica de fracionamento supercrítico para desacidificar o óleo de farelo de arroz bruto, em coluna de fracionamento com temperatura variando de 45 °C a 80 °C e pressão entre 138 bar e 275 bar, sendo que o material refinado apresentou concentração de orizanol três vezes maior que o material alimentado, enquanto que na desacidificação química ocorre perda de orizanol, por arraste no material saponificado.

Perreti et al. (2002) obtiveram óleo de farelo de arroz com melhor qualidade que os métodos tradicionais usando ESC, sendo que a 700 bar e 80 °C obtiveram óleo com 18 mg/g de orizanol, diminuindo as perdas de orizanol durante a extração do óleo de arroz.

Atualmente no Brasil, não existe nenhuma planta de extração, isolamento ou purificação de orizanol. Vários estudos e técnicas estão sendo estudadas para melhorar a qualidade do óleo de farelo de arroz pela minimização das perdas de orizanol e outros micronutrientes importantes ou pela recuperação do orizanol perdido nas etapas do refino do óleo de farelo de arroz.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foi a borra proveniente da neutralização do óleo bruto de farelo de arroz (RBOS), fornecida pela indústria IRGOVEL S.A., localizada no município de Pelotas, Rio Grande do Sul. A amostra foi enviada em um recipiente plástico, com capacidade de 50 kg. A matéria-prima foi conservada, em temperatura ambiente, neste mesmo recipiente, fechado, evitando contato com o ar, luz e umidade.

4.2 Determinação do teor de umidade da RBOS

Para determinação do teor de umidade foi utilizado o método de Perda por Dessecação (AOAC, 1990).

Cinco gramas da amostra foram pesadas em cadinho tarado, previamente aquecido em estufa, sem circulação de ar, a 105 °C, por 1 hora, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Os cadinhos com as amostras foram aquecidos em estufa a 105 °C por 6 horas, resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados. Essa operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante da amostra.

Para o cálculo do teor de umidade, a Equação (5) foi empregada:

$$\text{Teor de umidade (m/m) (\%)} = \frac{100 \times N}{P} \quad (5)$$

Onde: N = perda de peso (g); P = massa inicial de amostra (g).

4.3 Tratamento da matéria-prima

A fim de padronizar a matéria-prima utilizada e evitar algumas impurezas que pudessem interferir nos processos de extração do orizanol, a RBOS foi submetida a uma série de tratamentos e posteriormente conservadas em sacos de polietileno, identificadas e acondicionadas em refrigerador doméstico marca Cònsul, a temperatura de -5 °C.

As etapas utilizadas foram: saponificação, formando o saponificado da RBOS, onde alguns materiais presentes na RBOS são saponificados e não interferem na etapa de extração; secagem, a fim de diminuir o teor de água presente na amostra e aumentar o rendimento de extração; moagem, para diminuir o tamanho de partícula; análise granulométrica.

4.3.1 Saponificação

A RBOS foi inicialmente tratada com álcali para sua saponificação, a temperatura de 90 °C, sob agitação constante, durante 1 h. O álcali usado foi NaOH, na proporção de 1:20 de matéria seca da RBOS, a mesma utilizada por Rao et al., (2002). Utilizou-se um banho térmico (TC) (Microquímica, modelo MQBTZ99-20) para o aquecimento da RBOS, com controle de temperatura em 90 °C, verificada através de termômetro (INCOTERM, -10 °C a 110 °C), no centro da amostra e controle do pH, utilizando tiras com indicadores coloridos de pH (MACHEREY – NAGEL, pH-FIX 0 - 14). O pH foi ajustado sempre em 14 para garantir saponificação total dos compostos presentes na RBOS. O excesso de NaOH foi neutralizado com bicarbonato de sódio, controlando para que o pH final permanecesse entre 9 e 10, faixa ótima para extração do orizanol do saponificado do RBOS, segundo Seetharamaiah e Prabhakar (1986).

Para evitar que alguns compostos fossem extraídos junto com o orizanol nas etapas de extração, optou-se por saponificar a RBOS, impedindo assim que alguns compostos atrapalhassem nas próximas etapas da obtenção do orizanol.

A saponificação foi feita seguindo o método proposto por Rao et al (2002), sendo que foram feitas algumas modificações para adaptar essa metodologia à estrutura do laboratório.

Inicialmente foram testados métodos para o aquecimento da RBOS durante a saponificação, visto que a mesma devia encontrar-se a temperatura de 90 °C. Os métodos testados foram aquecimento direto em chapa térmica, aquecimento em banho-maria e adição de solução de NaOH em aquecimento direto em chapa. O método do aquecimento direto em chapa foi descartado por queimar a parte inferior da matéria-prima, podendo ser por causa da falta de eficiência na agitação ou pela temperatura muito alta da chapa de aquecimento. O aquecimento direto com solução de NaOH gerou uma grande quantidade de resíduo líquido, não se mostrando eficiente, podendo haver perda de orizanol na água alcalina, visto que o orizanol possui alguma solubilidade em meio alcalino. Optou-se assim por usar aquecimento em banho-maria, com agitação manual constante e controle de temperatura no centro da amostra.

Uma modificação no método proposto por Rao et al (2002) foi durante a etapa de neutralização, onde a amostra era totalmente neutralizada. Porém estudos feitos por Seetharamaiah e Prabhakar (1986), mostram que o pH da RBOS saponificada tem papel importante durante as etapas de extração do orizanol, sendo que a quantidade de orizanol extraído aumenta com o aumento do pH até um ponto onde forma-se uma emulsão durante a extração (acima de pH 9,5). Portanto o pH da RBOS saponificada foi ajustado para 9,5 utilizando bicarbonato de sódio.

4.3.2 Secagem

O sabão obtido foi colocado em repouso ao ar livre para secagem e formação de poros, durante 2 h. Posteriormente o sabão poroso foi seco em estufa, a 115 °C por 4 h. A umidade final foi controlada para ficar abaixo de 3 %, evitando assim que a umidade prejudicasse o rendimento e os processos de extração dos insaponificáveis presentes na RBOS.

4.3.3 Moagem e Análise Granulométrica

O RBOS saponificado e seco foi moído manualmente, utilizando cadinho e pistilo, utilizando tempo de 3 min de moagem.

O sabão moído foi separado quanto ao tamanho de partícula através de um agitador de peneiras, marca Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, com as seguintes peneiras: 6 Mesh (3360 μ m), 16 Mesh (1000 μ m), 20 Mesh (850 μ m), 32 Mesh (500 μ m), 48 Mesh (300 μ m) e 65 Mesh (212 μ m). A massa de partículas retida em cada peneira foi pesada e posteriormente foi determinada a distribuição das partículas da amostra. As partículas com diâmetro igual ou menor que 300 μ m e maiores e iguais a 3360 μ m, foram descartadas para que se tivesse um controle do tamanho das partículas no leito.

4.3.4 Determinação do teor de umidade do saponificado da RBOS

Para determinação do teor de umidade foi utilizado o método de perda por dessecação (AOAC, 1990). Cinco gramas da amostra foram pesadas em cadinho tarado, previamente aquecido em estufa a 105 °C, por 1 hora, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Os cadinhos com as amostras foram aquecidos em estufa a 105 °C por 3 horas, resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados. Essa operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante da amostra.

4.4 Extração dos insaponificáveis da RBOS

O sistema soxhlet consiste de um extrator que é acoplado na extremidade inferior a um balão de 1000 mL e na extremidade superior a um condensador. Para cada extração para acúmulo de massa de insaponificável, para utilização nas etapas posteriores do trabalho, cerca de 50 g de amostra foram pesadas e envolvidas em papel filtro, formando um cartucho que foi inserido no extrator. Foram utilizados 600 mL do solvente selecionado, que foi acondicionado no balão e aquecido com manta de

aquecimento. Com o aquecimento o solvente evapora, sobe pelo braço do extrator, entra no condensador, volta à forma líquida e goteja sobre o cartucho com a amostra. O solvente fica em contato com a amostra, extraíndo os compostos solúveis até que o extrator encha na altura do sifão e a mistura solvente/soluto retorne ao balão. O solvente é novamente aquecido, evapora e deixa no balão os compostos extraídos. Este processo de refluxo se repete até que todo o material solúvel presente amostra seja extraído.

A extração usando Soxhlet para determinar o tempo de extração foi feita utilizando 10 g de amostra e 150 ml de acetato de etila. Os tempos utilizados na extração foram de 4 h, 5 h, 6 h e 8 h. O solvente foi removido usando um evaporador rotatório com controle de vácuo (Fisatom, modelo 802). A massa de extrato foi medida em balança analítica (Ohaus, modelo AS200), e o rendimento calculado em termos de massa de matéria-prima utilizada.

A Tabela 5 apresenta o índice de polaridade apresentado de alguns solventes utilizados nos processos de extração com solvente orgânico.

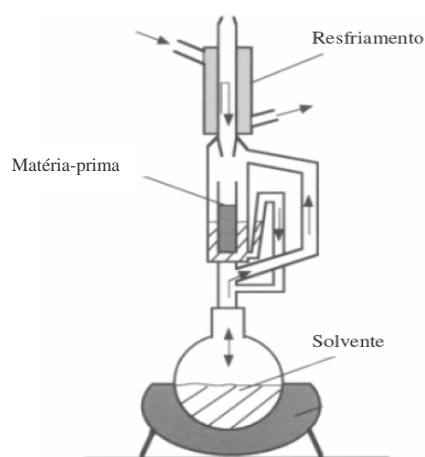
Tabela 5 Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extração com solvente orgânico.

Solventes	Índice de polaridade
Hexano	0
Éter etílico	2,8
Acetato de etila	4,4
Água	9,0

O solvente utilizado foi escolhido baseando-se em sua polaridade, preço e na solubilidade do orizanol no mesmo, sendo o mesmo solvente utilizado por Rao et al (2002), em seu trabalho.

A matéria insaponificável obtida foi acondicionada em saco de polietileno e guardada sob refrigeração, a -5 °C.

A Figura 8 apresenta um aparato de Soxhlet para extração de óleos vegetais com solvente orgânico em laboratório.



Fonte: MARTÍNEZ, 2005

Figura 8 Aparato de Soxhlet para extração de óleos vegetais em escala laboratorial.

A Figura 9 apresenta o aparato utilizado para extração e evaporação do solvente nesta etapa.



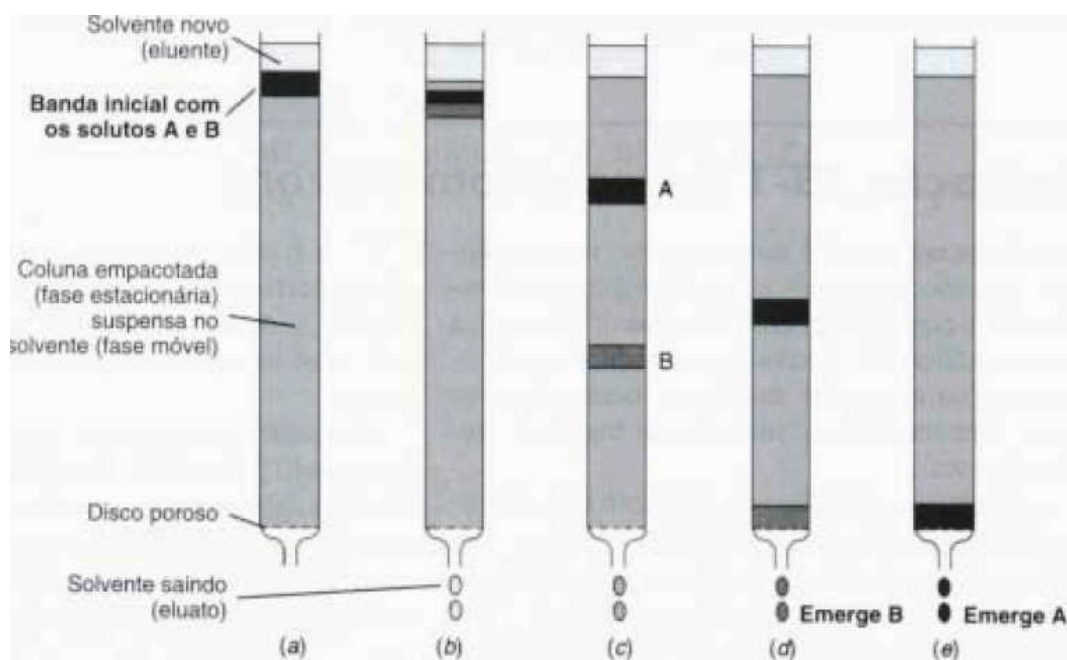
Figura 9 Aparato utilizado para extração e evaporação do solvente na etapa de extração dos insaponificáveis presentes no segundo saponificado da RBOS.

4.5 Tratamento com solução metanol-acetato de etila (1:1)

O material insaponificável obtido anteriormente foi deixado em repouso com solução de metanol-acetato de etila (1:1) por 12 h. O resíduo precipitado foi removido da solução por filtração, utilizando papel filtro Qualy 12,5 (J. Prolab, poros 14 μm), e o material precipitado foi lavado com a solução duas vezes, sendo posteriormente adicionado ao filtrado e rota evaporado (Fisatom, modelo 802) para eliminação do solvente.

4.6 Coluna cromatográfica

Após o tratamento com a solução de metanol-acetato, utilizou-se coluna cromatográfica para purificação do orizanol. Como fase estacionária utilizou-se sílica gel ativada a 150 °C por 2 h, em estufa. A coluna foi preparada misturando a sílica ao hexano e acrescentando aos poucos a sílica em uma bureta, a fim de se obter uma fase estacionária uniforme. Utilizou-se como líquido de suspensão o hexano. Pela Figura 10 pode-se visualizar o funcionamento da coluna cromatográfica.



Fonte: SILVA (2003).

Figura 10 Ilustração do funcionamento da coluna cromatográfica.

Para a fase móvel foi testado a eluição com hexano (20 mL) seguido de clorofórmio (40 mL), sendo recolhidos em balões separados, e somente clorofórmio (40 mL). Foram utilizados 1 g do material insaponificável obtido após tratamento do mesmo com solução de metanol e acetato, sendo esse material diluído no primeiro eluente a ser passado pela coluna. Os solventes foram recolhidos separadamente após passarem pela coluna, rotaevaporados e o resíduo obtido foi mantido sob refrigeração até ser analisado quanto ao teor de orizanol. A Figura 11 mostra a coluna cromatográfica utilizada, sendo que foi utilizado algodão para evitar a passagem da sílica para os balões de recolhimento do eluente.

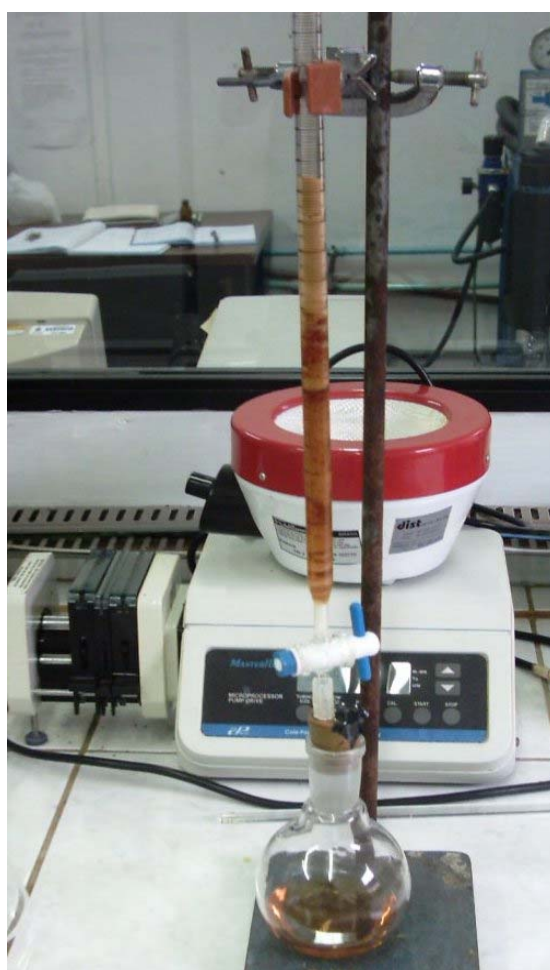


Figura 11 Foto da coluna cromatográfica utilizada nos experimentos.

4.7 Cristalização com solução de metanol: acetona

Foram testados dois métodos de cristalização para obtenção de orizanol com elevado grau de pureza. O primeiro método consistiu na cristalização do orizanol utilizando solução de metanol-acetona (2:1) e refrigeração do mesmo a 0 °C por 12 h. Após isso os cristais foram separados por filtração e pesados em balança analítica. Os cristais obtidos foram guardados sob refrigeração e posteriormente analisados para determinação da pureza e rendimento do orizanol.

Outro método de cristalização empregado o uso de solução de metanol-acetato (2:1), onde 5 g do material insaponificável foram acrescentados na mistura de solventes colocados na temperatura de refluxo dos solventes até total dissolução do material insaponificado. Após isso a solução foi resfriada até temperatura ambiente e filtrada. O material precipitado foi removido e lavado com a solução, o líquido de lavagem foi adicionado novamente a solução, que foi resfriada a 2 °C, por 12 h e posteriormente foi filtrado novamente para retenção dos cristais no papel filtro.

4.8 Extração supercrítica

Os experimentos de ESC foram realizados com dois tipos de amostras, com o objetivo de determinar as condições de temperatura e pressão nas quais o maior rendimento global é obtido. Para as extrações supercríticas foram utilizadas como amostra o saponificado da RBOS, proveniente da etapa 4.3.1 e também o material insaponificável obtido do saponificado da RBOS, por extração com solvente orgânico, conforme etapa 4.5.

Uma vez conhecidas as condições e o rendimento global, foram feitos os experimentos cinéticos visando obter as curvas de extração. Os experimentos cinéticos de ESC foram realizados no mesmo equipamento que os ensaios de determinação de rendimento global (x_0). Foram utilizados 20 g de material e o experimento teve duração de 300 min. Vários frascos foram utilizados na coleta dos extratos, sendo todos previamente pesados em balança analítica. A cada intervalo de 5 ou 10 min o frasco de coleta foi trocado, e o extrato pesado, de forma a determinar a massa de extrato obtida em função do tempo de experimento.

4.8.1 Unidade de ESC

A unidade de ESC constitui-se de um cilindro de CO₂ com tubo pescador (White Martins Ltda, Joinville, SC, Brasil), que alimenta a linha de extração. A linha passa imersa em um banho termostático de resfriamento (Thermo Haake C10 - K10) programado para manter a temperatura inferior a 0 °C, garantindo assim que o solvente siga no estado líquido à bomba (Maximator M111 CO₂), que trabalha suprida por uma linha de ar comprimido e filtrado. A pressão de operação desejada é regulada através da válvula V1 (Tescom Cat N° 26-1761-24-161). A bomba é alimentada com o solvente, que é então pressurizado a uma pressão pré-estabelecida em V1, e encaminhado à linha de extração, passando ao extrator, que se constitui de um cilindro encamisado de aço inox com extremidades rosqueadas de 33,5 cm de comprimento, 2,042 cm de diâmetro interno e volume interno de 100 mL.

A temperatura de operação do extrator é mantida constante através de um banho termostático de aquecimento (Thermo Haake DC30 –B30). Toda a tubulação onde se encontram conectadas as válvulas V1 a V6 é mantida submersa em um banho termostático de aquecimento (Microquímica, modelo MQBTZ99-20) a uma determinada temperatura, conforme necessário. A tubulação da saída do extrator é conectada à V3 (Sitec Microvalve 710.3012) e em seguida à V4 (Sitec Shutoff Valve 710.3010) por onde a vazão de CO₂ é regulada. Após passar pela V4, o extrato é coletado em tubos âmbar, aos quais também é conectado um rotâmetro (ABB Automation Products 10 A 61) para medição da vazão de CO₂, regulada na V4.

Essa unidade de ESC foi completamente desenvolvida e construída na Alemanha, na Technische Universität Hamburg-Harburg (TUHH), no Laboratório 'Thermische Verfahrenstechnik'. A ilustração e o esquema da unidade de ESC-B estão apresentadas nas Figuras 12 e 13, respectivamente.

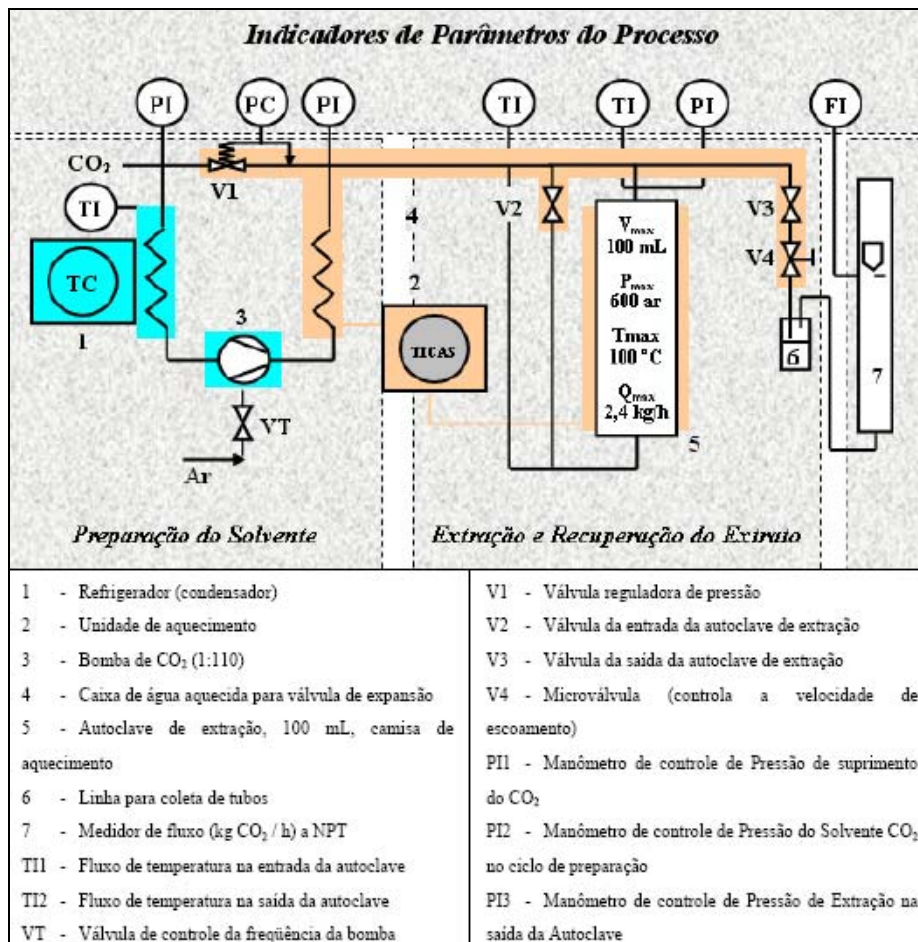


Figura 12 Ilustração da unidade ESC.



Figura 13 Esquema da unidade ESC.

4.8.2 Verificação da influência da temperatura e pressão no rendimento da extração do orizanol do saponificado da RBOS e da fração insaponificável da RBOS.

A verificação da influência da pressão e da temperatura no rendimento global da ESC foi realizada através de um planejamento experimental com 3 níveis e 2 variáveis. As variáveis são: pressão, nos níveis 100, 200 e 300 bar, e temperatura, nos níveis 30 °C, 45 °C e 60 °C. Nesta etapa foram utilizados dois tipos de material de alimentação no extrator, separadamente, sendo eles o saponificado da RBOS (obtido conforme 4.3.1) e a fração insaponificável obtida, por extração com solvente orgânico, do saponificado da RBOS (conforme 4.5).

O planejamento experimental utilizado foi o fatorial completo 3^2 , totalizando 9 experimentos, para cada tipo de amostra usada, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 Planejamento experimental fatorial completo 3^2 , com as variáveis temperatura e pressão, variando em 3 níveis.

Experimento	Variáveis codificadas de temperatura	Variáveis codificadas de pressão	Variáveis reais de temperatura (°C)	Variáveis reais de pressão (bar)
1	-1	-1	30	100
2	-1	0	30	200
3	-1	+1	30	300
4	0	-1	45	100
5	0	0	45	200
6	0	+1	45	300
7	+1	-1	60	100
8	+1	0	60	200
9	+1	+1	60	300

Cada experimento foi realizado em duplicata, com vazão constante de solvente de $0,6 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$ e 30 g de matéria-prima, quando se utilizou o saponificado da RBOS e 13 g quando foi utilizado o insaponificável, mantendo a altura do leito constante para cada tipo de amostra utilizada.

A condição que proporcionou o maior rendimento global foi determinada através de análise estatística dos resultados, usando o método ANOVA, com o auxílio do software Statistica 6.0.

4.8.3 Determinação do rendimento global

O rendimento global X_0 é a razão entre a massa de material extraível e a massa de matéria-prima no leito de ESC, conforme a Equação (6).

$$X_0(\%) = \frac{\text{Massa de material extraível}}{\text{Massa de matéria - prima}} \quad (6)$$

O saponificado da RBOS e a fração insaponificável extraída da RBOS com o uso de solvente orgânico foram utilizados para a determinação de X_0 , utilizando a Equação (6).

4.8.4 Experimentos Cinéticos – Curvas de Extração

Os experimentos cinéticos para a obtenção das curvas de extração consistiram na determinação da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração. Para a determinação das curvas de extração foram utilizados frascos de coleta previamente pesados em balança analítica e a coleta do soluto extraído foi realizada em intervalos em tempos pré-determinados de 5, 10, 15, 30 e 60 minutos. Após a coleta os frascos são novamente pesados para se obter a massa de extrato em função do tempo de extração. As curvas de extração podem ser construídas através da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração ou da massa de CO_2 consumido; ou ainda pela razão massa de extrato/ massa de sólido versus a massa de CO_2 consumida pela massa de sólido.

Os experimentos cinéticos foram realizados utilizando CO_2 puro na pressão de 300 bar, temperatura de 60 °C e vazão de 0,6kg/h para a ESC utilizando a RBOS

saponificada e pressão de 300 bar, temperatura de 60 °C e vazão de 0,6 kg/h, quando foi utilizado a matéria insaponificável obtida na etapa 4.5 deste trabalho.

4.8.5 Modelagem matemática

A modelagem das curvas de extração foi realizada utilizando os modelos apresentados por Esquível et al., (1999), Gaspar et al., (2003) e Martinez et al., (2003) através do programa Mass Transfer desenvolvido por Correia et al., (2006) disponível no LATESC – EQA - UFSC.

4.9 Avaliação do teor de orizanol

As avaliações do teor de orizanol na RBOS e os teores obtidos nos extratos, e nas etapas de extração do insaponificável da RBOS, coluna cromatográfica e cristalização foram feitas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC/UV).

O equipamento utilizado foi *HPLC Varian ProStar 230/310*, detector de UV ajustado para 325 nm, *coluna ChromSpher 5 C18 (250 x 4.6 mm)*, fase móvel Metanol, isopropanol e Acetonitrila:Ác. Acético 1% com fluxo constante de 0,8 mL min⁻¹, segundo a programação 40:5:50 (3 min) a 45:5:50 em 1 min; a 70:5:25 em 10 min (8 min) a 95:5:0 em 8 min (2 min). Os dados foram adquiridos através de software Star Workstation 5.52

4.10 Fluxograma das atividades desenvolvidas para extração e purificação do orizanol presente na RBOS.

A Figura 14 apresenta um fluxograma com o resumo das atividades desenvolvidas na recuperação do orizanol presente na RBOS.

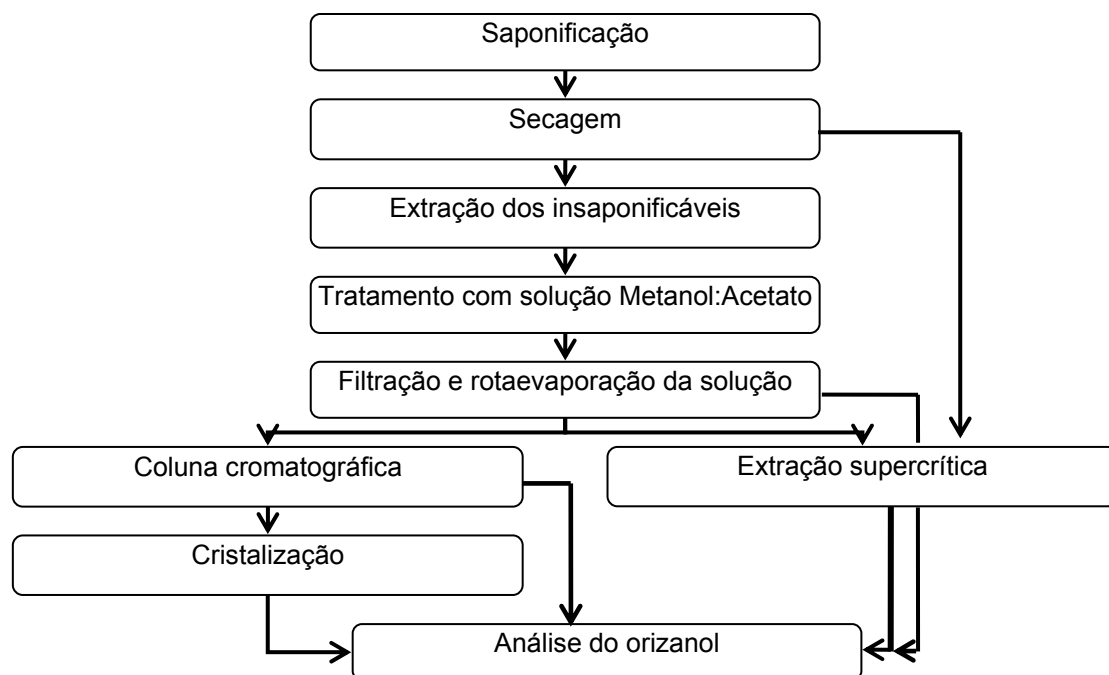


Figura 14 Fluxograma das atividades desenvolvidas na recuperação do orizanol presente na RBOS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Umidade da matéria-prima

Inicialmente foi feito o teor de umidade presente na matéria-prima, para o cálculo da quantidade de hidróxido de sódio a ser utilizada durante a etapa de saponificação da RBOS. A Tabela 7 mostra os valores de umidade, a média e o desvio padrão encontrado para a RBOS, feito em triplicata com três repetições.

Tabela 7 Teor de umidade da RBOS.

Um1(%)	Um2(%)	Um3(%)	Média	DesvPad
44,91	43,19	46,99	45,03%	0,67

Os valores de umidade encontrados ficaram abaixo de valores citados na literatura, Narayan et al (2006), reportam que a RBOS típica do refino do óleo de farelo de arroz possui aproximadamente 60 a 70 % de umidade. Porém o teor de umidade está relacionado com o processamento do óleo de farelo de arroz, mais especificamente com as etapas de degomagem e centrifugação do óleo degomado e neutralização do óleo, podendo haver variação do teor de umidade para cada indústria e até mesmo para cada batelada de óleo refinado.

5.2 Teor de orizanol na matéria-prima

O teor de orizanol presente na RBOS foi determinado por HPLC/UV. A quantidade inicial de orizanol presente na RBOS é uma importante característica para avaliar o rendimento de orizanol extraído e a eficiência do processo de extração do orizanol da RBOS. A Tabela 8 apresenta a quantidade em porcentagem de orizanol presente na RBOS.

Tabela 8 Quantidade de orizanol presente na RBOS.

Amostra	Quantidade de orizanol (%)	Média	Desvio padrão
RBOS IRGOVEL 1	1,4	1,45	0,071
RBOS IRGOVEL 2	1,5		
Valor literatura	1,3 – 3,1	-	-

Embora a RBOS da indústria IRGOVEL possua valores baixos de orizanol, comparando com outros RBOS, observa-se que o valor de orizanol encontra-se dentro da faixa citada na literatura por Seetharamaiah e Prabhakar (1986). O RBOS possui um grande potencial a ser explorado, sendo que o teor de orizanol pode variar com a produção do óleo de farelo de arroz, onde pequenas modificações no processo como quantidade de água e álcali adicionado na etapa de neutralização, o tempo de centrifugação nesta etapa e até mesmo a variação do farelo de arroz utilizada podem afetar a quantidade de orizanol retida na RBOS (NARAYAN et al, 2006).

5.3 Saponificação da RBOS

O teor de NaOH acrescido na RBOS para o processo de saponificação da mesma foi calculado utilizando a proporção de 20 partes da RBOS, em base seca, para 1 parte de NaOH, seguindo o método proposto por Rao et al (2002).

A secagem do saponificado da RBOS foi feito de acordo com o método de Rao et al (2002), porém com um aumento no tempo de secagem a 115 °C de 2 h para 4 h, a secagem ao ar livre anterior a secagem na estufa foi feito com o mesmo tempo proposto de 2 h. A modificação no tempo de secagem foi para garantir o baixo teor de umidade na amostra, que interfere nas etapas de extração, podendo até gerar a solubilização da RBOS saponificada durante a extração. A eficiência da secagem foi acompanhada pela determinação do teor de umidade da RBOS saponificada, onde a matéria saponificada com umidade abaixo de 5% não apresentou problemas durante a extração do orizanol. A Tabela 9 mostra o teor de umidade da RBOS saponificada, os problemas apresentados e o tempo de secagem utilizado durante a etapa de secagem em estufa a 115 °C.

Tabela 9 Tabela da influência da umidade nas etapas de extração para purificação do orizanol.

Tempo de secagem (h)	Teor de umidade (%)	Problemas na extração
2	6,15 ± 0,48	Solubilização da RBOS durante etapa de extração com fluido supercrítico e solvente orgânico.
3	4,18 ± 0,98	Diminuição do rendimento da extração com solvente orgânico e solubilização do saponificado da RBOS utilizando fluido supercrítico.
4	1,81 ± 0,51	Não ocorreram problemas aparentes.

A Figura 15 mostra a etapa de saponificação da RBOS, realizada no LATESC-UFSC. Foi utilizado um banho térmico (TC) (Microquímica, modelo MQBTZ99-20) para o aquecimento da RBOS, contida em um becker, com agitação manual, feita utilizando bastão de vidro e com uso de termômetro para medir a temperatura no centro da RBOS.



Figura 15 Foto do processo de saponificação da RBOS.

Na Tabela 10 pode-se observar o rendimento da etapa de saponificação, após os processos de neutralização e secagem, utilizando diversas quantidades iniciais de matéria-prima.

Tabela 10 Rendimento, média e desvio padrão da etapa de saponificação da RBOS.

Saponific.	M. inicial (g)	M. saponificada (g)	Rend.(%)	Média	Desvio Padrão
1	338,97	201,03	45,50		
2	429,14	216,72	41,21		
3	910,48	472,48	36,52		
4	968,00	447,51	35,90	41,06	4,34
5	746,55	414,32	44,00		
6	796,30	394,28	43,23		

Observa-se que há uma variação no rendimento de saponificação, causada pelas perdas durante as trocas de recipiente e manipulação do material, sendo que quando se utilizou massa acima de 900 g de matéria-prima os rendimentos foram abaixo de 40 %, devido ao fato de aumentar a quantidade de massa perdida durante a manipulação da massa saponificada. A Figura 16 apresenta o saponificado obtido após estas etapas, assim como a RBOS, em sua forma natural.



Figura 16 Foto do saponificado obtido da RBOS (esquerda) e da matéria-prima (RBOS, à direita).

5.4 Extração dos insaponificáveis presentes na RBOS

A Tabela 11 apresenta os valores médios de rendimento, em porcentagem, obtido de matéria insaponificável para os diversos tempos de extração e também o desvio padrão das triplicadas realizadas para testar o tempo de extração.

Tabela 11 Rendimento médio da etapa de extração dos insaponificáveis da RBOS saponificada e seus respectivos desvios padrões.

Amostra	Média (%)	Desvio padrão
sox4h	10,74	0,12
sox5h	10,69	0,45
sox6h	11,23	0,34
sox8h	11,69	0,66

O rendimento obtido de matéria insaponificável ficou abaixo dos valores reportados por Rao et al (2002), utilizando o mesmo solvente e o mesmo tempo de extração, sendo que o mesmo obteve rendimento de 14%. Essa diferença pode ser devido às características da RBOS, que variam conforme a técnica utilizada de refino do óleo de farelo de arroz, assim como as características do próprio farelo de arroz utilizado.

Para verificar se houve diferença significativa entre os valores do rendimento de insaponificáveis optou-se por fazer o teste de Tukey, utilizando para isso o software Statística 6.0. A Figura 17 mostra as médias dos rendimentos obtidos e a existência, ou não, de diferença significativa entre os tempos de extração.

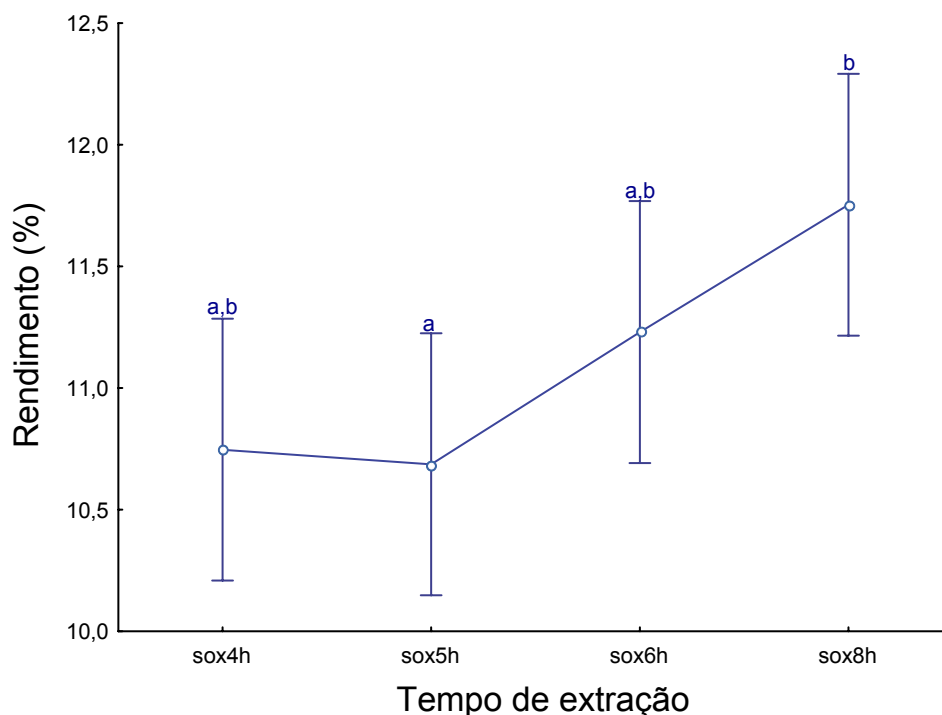


Figura 17 Média e análise da diferença estatística dos tempos de extração da fração insaponificável da RBOS utilizando teste de Tukey, onde letras iguais significam a ausência de diferença significativa entre os tempos.

Observa-se pela Figura 17 que houve diferença significativa somente entre os tempos de 5 h e 8 h, sendo esta diferença provavelmente devido a um erro experimental. Como não houve diferença significativa entre os tempos de 4 h e 8 h, optou-se por utilizar o tempo de 4 h de extração, sendo o mesmo tempo utilizado por Rao et al. (2002) em seu trabalho.

Após determinação do tempo de extração, foram feitas diversas extrações, utilizando massa de 50 g de amostra e 4 h de extração, para obter quantidade suficiente de matéria insaponificável para proceder com as demais etapas de purificação de orizanol, como a cristalização, coluna cromatográfica e extração com fluido supercrítico.

5.5 Tratamento da matéria insaponificável com solução metanol-acetato de etila

O material insaponificável obtido pela extração (etapa 4.4) foi tratado com solução de metanol e acetato de etila para remoção de impurezas e ceras presentes. Onde o insaponificável foi dissolvido na solução (1:1), segundo método proposto por Rao et al (2002). Durante esta etapa parte das impurezas presentes são removidas dos insaponificáveis, como algumas ceras, devida à diferença de solubilidade na solução, visto que o orizanol é solúvel nesta solução pode-se separar o mesmo, aumentando assim sua pureza. A Tabela 12 mostra o rendimento desta etapa, em porcentagem de material insaponificável filtrado pelo material insaponificável inicial.

Observa-se, na Tabela 12, que parte do material insaponificável é removido nesta etapa, como as ceras. Os valores de rendimento reportado por Rao et al (2002) foram de 86%, notando assim que houve uma maior quantidade de material retido na filtração, podendo isto ser decorrente das características da matéria-prima ou das perdas de orizanol nesta etapa, sendo que parte do mesmo pode ter ficado retido durante a filtração.

Tabela 12 Rendimento, média e desvio padrão da etapa de tratamento do material insaponificável extraído da RBOS com solução de metanol–acetato de etila (1:1).

Extração	Rendimento (%)	Média*	Desvio padrão
4h	60,28	67,50 ^a	10,21
4h	74,73		
6h	75,30	74,21 ^a	1,53
6h	73,13		
8h	88,00	81,78 ^a	8,78
8h	75,57		

* Letras iguais representam ausência de diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Nota-se também, observando a Tabela 12, uma variação muito grande entre os rendimentos obtidos para um mesmo tempo de extração, mostrando a falta de uniformidade na matéria insaponificável obtida na etapa de extração. Observa-se que não houve diferença estatística entre os tempos de extração por soxhlet. Essa

diferença não ocorre devido ao desvio padrão, que teve um valor alto em razão da não uniformidade do extrato obtido na etapa 4.4 deste trabalho.

O teor de orizanol determinado por HPLC-UV após este tratamento, foi de 5,5 %. Utilizando o valor de orizanol presente na matéria-prima é possível calcular a perda de orizanol ocorrida até esta etapa do trabalho, através da equação (7).

$$\text{Perda de orizanol(\%)} = \{(M_{\text{orizanol inicial}} - M_{\text{orizanol final}})/M_{\text{orizanol inicial}}\} * 100 \quad (7)$$

Onde: $M_{\text{orizanol inicial}}$ = massa de orizanol presente na matéria-prima; $M_{\text{orizanol final}}$ = massa de orizanol após o tratamento com a solução.

O valor de orizanol inicialmente na matéria-prima é de 1,45 g/100 g de RBOS. Após as etapas de saponificação, secagem, extração e tratamento com solução metanol – acetato de etila a quantidade de orizanol presente na massa final foi de 5,5 g/100 g de insaponificado. Porém, 100 g da matéria-prima possui apenas 8,25 g do material insaponificado, pós-tratamento com solução metanol-acetato. Assim, calcula-se que a massa final de orizanol é de 5,5 % de 8,25 g, ou seja, 0,454 g de orizanol. Utilizando a Equação (7) as perdas de orizanol chegam a 68 % até esta etapa. Isto pode ser explicado por uma baixa eficiência durante a etapa de extração com solvente orgânico, visto a grande quantidade de impurezas e interferentes. Pode-se ter perdido orizanol, também, durante a etapa de secagem, por degradação térmica, ou até mesmo durante a etapa de tratamento com a solução de metanol - acetato, por precipitação de parte do orizanol. Os valores encontrados, tanto de rendimento quanto de pureza do orizanol nesta etapa, encontram-se abaixo citados na literatura. Indira et al (2005), obteve orizanol com 45% de pureza e rendimento de 80%, utilizando a RBOS como matéria-prima e acetato de etila como solvente, sendo que o mesmo reporta que o controle do pH e temperatura durante a etapa de extração são importantes para minimizar a degradação do orizanol durante o processo.

Na Figura 18, observa-se a fração insaponificável presente na RBOS do óleo de farelo de arroz, obtida após extração com acetato de etila e tratamento do extrato com solução metanol-acetato (1:1).



Figura 18 Foto da fração insaponificável obtida pós-tratamento com solução metanol-acetato de etila (1:1).

5.6 Separação do orizanol por coluna cromatográfica

Após tratamento com solução metanol-acetato de etila (1:1), o insaponificável foi permeado por uma coluna cromatográfica, usando sílica ativada como fase estacionária, e utilizando hexano e clorofórmio como fase móvel. A Tabela 13 apresenta os valores de rendimento utilizando somente o clorofórmio como eluente e utilizando o hexano seguido de clorofórmio.

Tabela 13 Média do rendimento obtido usando clorofórmio e hexano como eluente em coluna cromatográfica, utilizando a fração insaponificável da RBOS como material de alimentação na coluna.

Eluente 1	Rendimento (%)	Eluente 2	Rendimento (%)	Total (%)
Hexano	11,34	Clorofórmio	50,47	61,81
Clorofórmio	50,17	-	-	50,17

Na Tabela 13, pode-se observar que o rendimento utilizando hexano seguido de clorofórmio foi superior ao rendimento utilizando somente clorofórmio, porém, nota-se que o hexano arrasta diferentes componentes, pois o rendimento utilizando só o clorofórmio e o rendimento utilizando clorofórmio após a utilização do hexano não diferiram. A análise do teor de orizanol presente após esta etapa mostra que a utilização de coluna para separação do orizanol não foi eficiente, sendo que o teor de orizanol no resíduo da coluna, após evaporação do solvente foi de 2,73%. Provavelmente, por algum problema desconhecido, o orizanol acabou ficando retido na coluna, ao contrário do que o trabalho de Rao et al (2002) reporta, sendo que o mesmo obteve uma fração com aproximadamente 60% de orizanol após evaporar o eluente, utilizando a mesma fase móvel e estacionária na coluna e o clorofórmio como eluente.

5.7 Cristalização do orizanol

Após a passagem do insaponificável pela coluna cromatográfica, foi feita uma cristalização do orizanol presente no resíduo da coluna, utilizando duas metodologias.

O primeiro método foi feito dissolvendo o resíduo da coluna diretamente em solução de metanol-acetona (2:1) e refrigerando o mesmo a 0 °C por 12 h, segundo método proposto por Rao et al (2002). Devido à pequena quantidade de resíduo da coluna utilizado nessa etapa, foi difícil observar a formação de cristais e até mesmo quantificá-los. Porém conseguiu-se separar os cristais e os mesmos foram analisados quanto ao teor de orizanol. O teor de orizanol foi de 2,5%, mostrando que havia problemas na metodologia empregada.

Optou-se assim por utilizar outro método de cristalização, proposto por Narayan et al (2005), onde se usou solução de metanol-acetato (2:1), na temperatura de refluxo até dissolução total do material insaponificável obtido após o tratamento com metanol-acetato de etila (1:1). Após isso ocorrem dois resfriamentos da solução para separação do orizanol. No primeiro resfriamento, até temperatura ambiente, algumas impurezas precipitam antes do orizanol e são separadas por filtração. No segundo resfriamento, até 2 °C, o orizanol precipita e é retirado da solução por filtração. Novamente ocorreram problemas nessa etapa, sendo que não foram observadas formações de cristais e nem retenção na segunda filtração.

Por não se obter cristais, não foi possível analisar o teor de orizanol quando foi utilizado o método de Narayan et al (2005) para cristalização do orizanol. Em seu trabalho o mesmo relata conseguir orizanol com 65% de pureza e 70% de rendimento.

5.8 Extração supercrítica da RBOS para obtenção de uma fração enriquecida em orizanol

Nesta etapa do trabalho foi utilizada extração com fluido supercrítico para recuperação do orizanol da RBOS e obtenção de uma fração enriquecida de orizanol. Para isso foram utilizados dois diferentes materiais de alimentação no extrator, sendo que na primeira etapa do trabalho foi utilizada a RBOS saponificada e seca, obtida na etapa 4.3.3 e na segunda etapa foi utilizado o insaponificável obtido por extração com acetato de etila da RBOS saponificada, na etapa 4.5 deste trabalho.

5.8.1 Extração supercrítica utilizando a RBOS saponificada

Primeiramente, para realização dos experimentos, foram definidos os valores das variáveis pressão e temperatura. Foram definidos os valores de 100 bar, 200 bar e 300 bar para pressão e 30 °C, 45 °C e 60 °C para temperatura. Os experimentos foram realizados em duplicata para a determinação do rendimento de extração, sendo feita uma única coleta de amostra, efetuada após o período de quatro horas, utilizando uma vazão fixa de 0,6 kg_{CO2}/h. Os frascos com extrato eram pesados e o solvente utilizado era quantificado com o auxílio de um rotâmetro. Para avaliar o efeito da temperatura e pressão sobre o rendimento de extrato, foi elaborado um planejamento experimental 3², ou seja, duas variáveis avaliadas em três níveis. Na Tabela 14, observa-se os valores de densidade do CO₂ determinados de acordo com ANGUS et al., (1976), característicos para as condições de temperatura e pressão adotadas neste trabalho, assim como seus respectivos rendimentos de extração e o desvio padrão destes rendimentos.

Tabela 14 Valores de densidade do CO₂ e do rendimento de extrato obtido nas condições de pressão de 100 bar, 200 bar e 300 bar, temperatura de 30 °C, 45 °C e 60 °C e vazão de CO₂ de 0,6 kg/h, utilizando a RBOS como matéria-prima.

Experimentos	P (bar)	T (°C)	ρ_{CO_2} (kg/m ³)	Rendimento extrato (%) ^(a)
1	100	30	772,16	6,05 ^a ± 0,26
2	100	45	499,66	2,21 ^b ± 0,17
3	100	60	290,11	0,22 ^c ± 0,04
4	200	30	891,18	10,39 ^{d, e} ± 0,18
5	200	45	813,52	9,71 ^d ± 0,09
6	200	60	724,51	5,34 ^a ± 0,11
7	300	30	948,59	10,62 ^{d, e} ± 0,89
8	300	45	891,09	11,12 ^e ± 0,44
9	300	60	830,44	12,51 ^f ± 0,52

^(a) Letras iguais indicam resultados que não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Podemos observar na Tabela 14 que o rendimento de extrato aumentou com a pressão do sistema. Observa-se, que o maior rendimento foi obtido a temperatura de 60 °C. Nota-se, também, que na pressão de 100 bar e temperaturas de 45 °C e 60 °C houveram os menores rendimentos de extrato, sendo que a 60 °C o valor foi de 0,22 %. Observa-se que nas pressões de 100 bar e 200 bar o aumento da temperatura diminui o rendimento da extração, enquanto que nas pressões de 300 bar observa-se o efeito contrário, um aumento do rendimento de extração com o aumento da temperatura.

Nota-se, observando a Tabela 14, que o rendimento dos extratos do experimento 1 e 6 não diferiram significativamente, assim como os experimentos 4, 5 e 7 e 4, 7 e 8, sendo que ao observar a densidade do CO₂ utilizado observa-se que para os grupos que não diferiram significativamente esses valores são próximos. Porém ao comparar o experimento 5 e 8, que possuem quase a mesma densidade de solvente,

nota-se que ambos diferiram significativamente. Essa diferença pode ser devido ao efeito da pressão de vapor do soluto.

Os resultados de rendimento global para a ESC do RBOS obtidos nas condições de pressão de 100 bar a 300 bar e temperaturas de 30 a 60 °C foram submetidos à ANOVA, utilizando o software Statistica 6.0 for Windows. Segundo a ANOVA tanto a temperatura ($p=0,001715$) quanto a pressão ($p=0,000001$) tiveram efeito significativo no rendimento global da ESC com CO_2 ao nível de 5 % de significância. O gráfico de superfície de resposta (Figura 19) apresenta o comportamento do rendimento global em função da pressão e temperatura de extração, onde a região mais escura representa a região de maior rendimento.

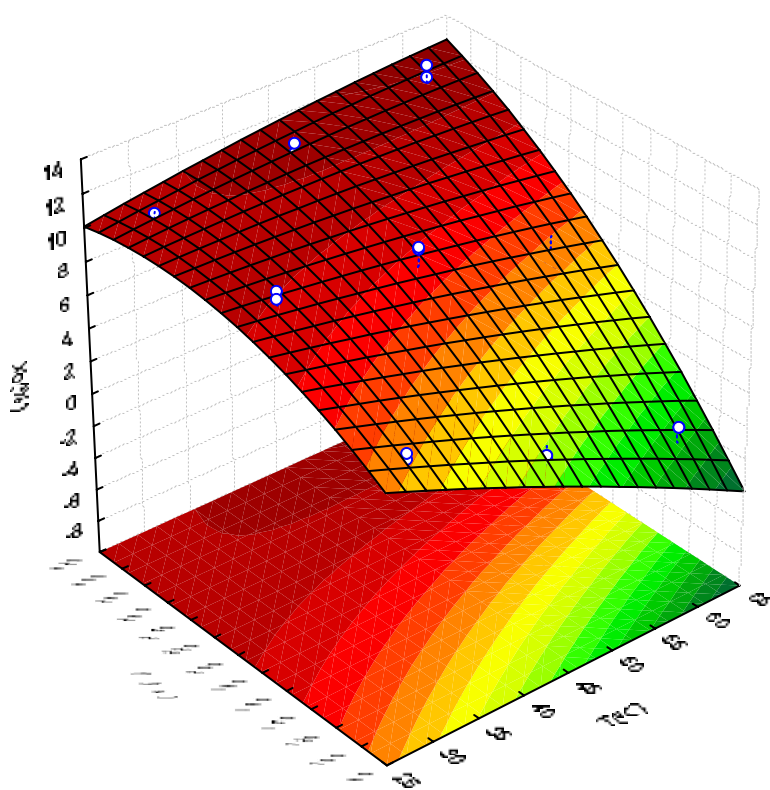


Figura 19 Superfície de resposta obtida para a RBOS saponificada.

Observa-se nesta superfície de resposta que o aumento da pressão e da temperatura utilizada na ESC aumenta o rendimento de extrato, sendo que o maior rendimento (zona vermelho escuro da superfície) ocorreu na maior pressão e temperatura, enquanto que os menores rendimentos de extrato (zona verde escuro da superfície) ocorreram nas condições de menor pressão e maior temperatura.

5.8.1.1 Rendimento de orizanol

Após os testes de rendimento do extrato, os mesmos foram analisados quanto ao teor de orizanol presente, para averiguar as condições de pressão e temperatura em que se obteve o maior teor de orizanol. Foram verificados tanto o rendimento da extração de orizanol, quanto a sua pureza. Na Tabela 15 apresenta-se os valores de pressão e temperatura utilizados, assim como o teor de orizanol no extrato.

Tabela 15 Valores de densidade do CO₂, do teor de orizanol e da recuperação de orizanol da RBOS obtido nas condições de pressão e temperatura do planejamento experimental da ESC da RBOS.

Experimentos	P (bar)	T (°C)	ρ_{CO_2} (kg/m ³)	Teor de orizanol (%)	Recuperação de orizanol (%)
1	100	30	772,16	0,50	1,05
2	100	45	499,66	0,30	0,23
3	100	60	290,11	0,03	0,00
4	200	30	891,18	3,40	12,18
5	200	45	813,52	2,80	9,37
6	200	60	724,51	2,40	4,43
7	300	30	948,59	11,80	43,21
8	300	45	891,09	13,50	51,77
9	300	60	830,44	16,00	69,00

Nota-se que o teor de orizanol no extrato aumenta com o aumento da pressão e diminui com o aumento da temperatura, para pressão de 100 bar e 200 bar e aumenta com o aumento da temperatura para pressão de 300 bar. Os maiores teores foram obtidos a 300 bar e 60 °C. O aumento na extração de orizanol com o aumento da pressão na ESC já havia sido reportada por Xu e Godber (2000), que trabalhou

com farelo de arroz, na extração de óleo de farelo de arroz, onde nas condições de 680 bar e 50 °C encontrou a maior concentração de orizanol no óleo. Jahn (2004) utilizando ESC, para extração do óleo do farelo de arroz, encontrou as maiores concentrações de orizanol na maior pressão utilizada no trabalho, 300 bar e temperatura de 40 °C. Nota-se que o aumento da pressão no sistema aumenta a quantidade de orizanol extraída.

Para o cálculo do rendimento de extração de orizanol foi utilizado o teor de orizanol na RBOS de 1,45%, onde foi assumido que em 100 g da RBOS existem 50 g de matéria seca (utilizando os dados da umidade). Logo, se não há perdas de orizanol durante o processo de saponificação e secagem, em 50 g do saponificado da RBOS existem 1,45 g de orizanol. Através de regras de três pode-se determinar a quantidade de orizanol que entrou no extrator, sendo a massa utilizada de 30 g de RBOS saponificada no extrator, contendo 0,87 g de orizanol. O rendimento de extrato foi de 12,51 % para a condição de melhor pressão e temperatura (300 bar e 60 °C) sendo que o rendimento em massa foi de 3,75 g de extrato, dessa massa tem-se que 16 % é de orizanol, dando uma massa de 0,60 g de orizanol no extrato. Dividindo-se a quantidade de orizanol que entrou no extrato pela quantidade de orizanol extraída, tem-se o rendimento de orizanol que foi de 69,00 %. O mesmo foi feito para as outras condições de pressão e temperatura e os resultados estão apresentados na Tabela 15.

Observa-se com estes valores que o maior rendimento de extrato apresentou também o maior teor de orizanol e a maior recuperação do mesmo, sendo esta recuperação de aproximadamente 69,00 %. Trabalhos que utilizam outros métodos para obtenção de orizanol como Rao et al (2002), obtiveram valores de recuperação de 70 %. Indira et al. (2005) utilizando uma serie de etapas envolvendo saponificação da RBOS e extração com solvente obteve uma recuperação de 80% do orizanol e pureza de 40 % a 45 % em peso. Das et al. (1998), desenvolveram um método de isolamento do orizanol através da precipitação do mesmo utilizando íons de cálcio para formação de agregado micelar aniônico, onde obteve 96 % de pureza do orizanol e uma recuperação de 76 %.

5.8.2 Extração supercrítica utilizando a fração insaponificável extraída da RBOS

Para a realização dos experimentos, utilizando a fração insaponificável extraída da RBOS, foram usados os mesmos valores das variáveis pressão e temperatura utilizadas anteriormente (definidos os valores de 100 bar, 200 bar e 300 bar para pressão e 30 °C, 45 °C e 60 °C para temperatura). Os experimentos foram realizados em duplicata para a determinação do rendimento de extração, sendo feita uma única coleta de amostra, efetuada após o período de quatro horas, utilizando uma vazão fixa de 0,6 kg_{CO2}/h. Os frascos com extrato eram pesados e o solvente utilizado era quantificado com o auxílio de um rotâmetro. Para avaliar o efeito da temperatura e pressão sobre o rendimento de extrato, foi elaborado um planejamento experimental 3², ou seja, duas variáveis avaliadas em três níveis. Na Tabela 16, observa-se os valores de densidade do CO₂ determinados de acordo com ANGUS et al. (1976), característicos para as condições de temperatura e pressão adotadas neste trabalho, assim como seus respectivos rendimentos de extração e o desvio padrão destes rendimentos.

Tabela 16 Valores do rendimento de extrato obtido nas condições de pressão de 100 bar, 200 bar e 300 bar, temperatura de 30 °C, 45 °C e 60 °C e vazão de CO₂ de 0,6 kg/h, utilizando o material insaponificável como matéria-prima.

Experimentos	P (bar)	T (°C)	ρ_{CO_2} (kg/m ³)	Rendimento extrato (%) ^(a)
1	100	30	772,16	1,09 ^{a,b} ± 0,11
2	100	45	499,66	1,51 ^{a,b} ± 0,10
3	100	60	290,11	0,90 ^a ± 0,04
4	200	30	891,18	1,58 ^b ± 0,37
5	200	45	813,52	3,01 ^c ± 0,08
6	200	60	724,51	4,85 ^d ± 0,05
7	300	30	948,59	1,54 ^{a,b} ± 0,18
8	300	45	891,09	6,11 ^e ± 0,42
9	300	60	830,44	6,31 ^e ± 0,38

^(a) Letras iguais indicam resultados que não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Os rendimentos obtidos na extração supercrítica da fração insaponificável obtida do RBOS saponificado variaram de 0,9 % até 6,31 %, sendo que os maiores rendimentos de extrato foram obtidos em pressões 300 bar em temperaturas de 45 °C e 60 °C. A temperatura de 30 °C obteve os menores rendimentos de extratos para todas as pressões. Observa-se, na Tabela 16, que os rendimentos obtidos a 100 bar não diferiram significativamente ao nível de 5% (letras iguais representam ausência de diferença significativa ao nível de 5%). Isso foi devido ao baixo rendimento de extração nessas condições. Os experimentos realizados a 30 °C, em todas as pressões, também não diferiram significativamente, observando também um baixo rendimento de extrato. Portanto, as condições de pressão e temperatura baixas não se mostram eficientes para extração utilizando a fração insaponificável da RBOS na ESC. Os valores de rendimento de extrato a 300 bar e 45 °C e 300 bar e 60 °C não diferiram significativamente, sendo os valores de 6,11 % e 6,31 %, respectivamente.

Comparando com os rendimentos obtidos para a ESC utilizando o saponificado da RBOS (5.2.1), os valores foram inferiores, porém os maiores rendimentos obtidos foram nas mesmas condições de pressão e temperatura para as duas amostras.

Os resultados de rendimento global para a ESC da fração insaponificável extraída do saponificado da RBOS obtidos nas condições de pressão de 100 a 300 bar e temperaturas de 30 a 60 °C foram submetidos à ANOVA, utilizando o software Statistica 6.0 for Windows. Segundo a ANOVA tanto a temperatura ($p=0,000001$) quanto a pressão ($p=0,000012$) tiveram efeito significativo no rendimento global da ESC com CO_2 ao nível de 5 % de significância. O gráfico de superfície de resposta, apresentado na Figura 20, apresenta o comportamento do rendimento global em função da pressão e temperatura de extração, onde a região mais escura representa a região de maior rendimento.

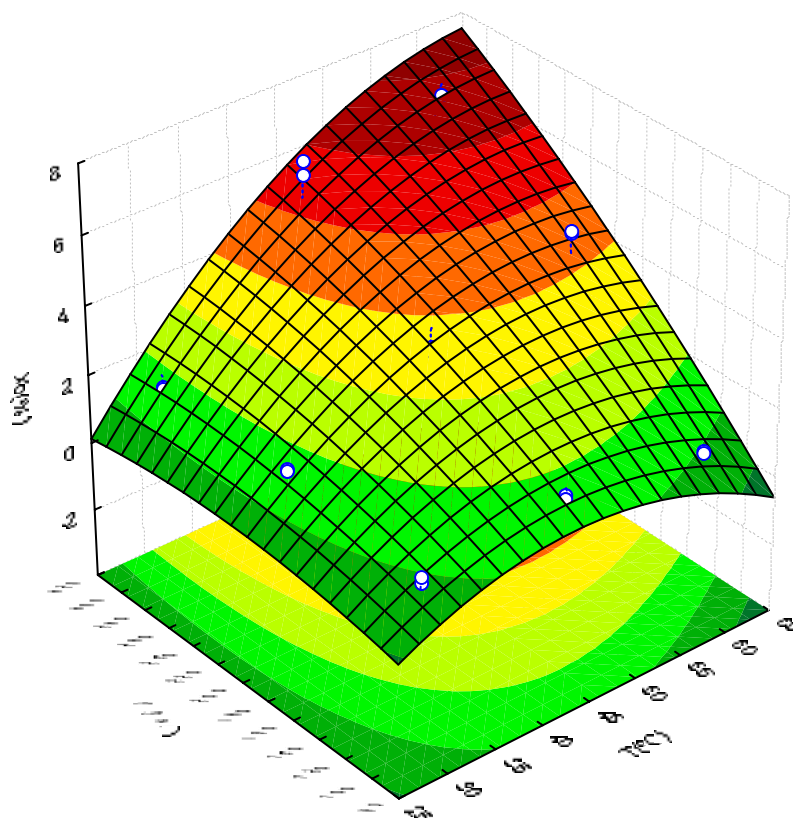


Figura 20 Superfície de resposta obtida para a fração insaponificável extraída da RBOS.

Observa-se através dessa superfície de resposta que pressões e temperaturas mais altas aumentam o rendimento de extrato, sendo que pressões altas e temperaturas baixas, assim como temperaturas altas e pressões baixas diminuem o

rendimento de extração. A utilização de pressões e temperaturas maiores é necessária para verificar as melhores condições de extração, visto que a superfície não se apresenta centralizada. Observa-se que o comportamento da superfície de resposta para o rendimento da ESC do insaponificável presente na RBOS foi diferente que o comportamento observado na ESC do saponificado da RBOS (Figura 19), onde não foram observados menores rendimentos em pressões altas e temperaturas baixas. Porém, quanto ao maior rendimento, ambos apresentaram comportamento semelhante, onde temperaturas e pressões mais elevadas resultaram em maior rendimento do extrato.

5.8.2.1 Rendimento de orizanol

Após os testes de rendimento do extrato, os mesmos foram analisados quanto ao teor de orizanol presente, para averiguar as condições de pressão e temperatura em que se obteve o maior teor de orizanol. Foram verificados tanto o rendimento da extração de orizanol, quanto a sua pureza. Na Tabela 17 apresenta-se os valores de pressão e temperatura utilizados, assim como o teor de orizanol no extrato e a recuperação de orizanol com base no teor de orizanol na RBOS.

Tabela 17 Valores de densidade do CO₂, do teor de orizanol e da recuperação de orizanol da RBOS obtido nas condições de pressão e temperatura do planejamento experimental da ESC da fração insaponificável da RBOS.

Experimentos	P (bar)	T (°C)	ρ_{CO_2} (kg/m ³)	Teor orizanol (%)	Recuperação de orizanol (%)
1	100	30	772,16	4,5	0,51
2	100	45	499,66	3,0	0,47
3	100	60	290,11	0,34	0,03
4	200	30	891,18	3,7	0,57
5	200	45	813,52	3,7	1,15
6	200	60	724,51	4,6	2,31
7	300	30	948,59	4,3	0,64
8	300	45	891,09	9,9	6,26
9	300	60	830,44	7,4	4,83

Observa-se, na Tabela 17, que o teor de orizanol aumentou com o aumento da pressão, sendo que os maiores teores foram a 300 bar e 45 °C e 300 bar e 60 °C, com valores de 9,9 % e 7,4 % respectivamente. A 100 bar e 60 °C houve o menor teor de orizanol (0,34 %). Nota-se que o maior teor de orizanol obtido utilizando a matéria insaponificável extraída da RBOS foi menor que o maior teor obtido utilizando a RBOS saponificada na ESC, onde o teor máximo foi de 16 %. Embora a concentração de orizanol seja maior no material insaponificável (5,5 %), algum fator dificultou a extração do orizanol desse material, podendo ser devido ao aspecto pastoso do material e a formação de caminhos preferenciais observados na amostra.

Para o cálculo da recuperação do orizanol foi utilizado o cálculo apresentado no item 5.5, onde 8,25 g da matéria insaponificável apresentavam 0,454 g de orizanol. No extrator foram usados 15 g de material insaponificável, o que representa uma quantidade de 0,825 g de orizanol possível de ser extraído. No maior rendimento de extrato, foi extraído 6,31 % da matéria inicial, ou seja, 0,947 g de extrato. Dessa

massa 7,4 % era de orizanol, o que equivale a 0,07 g de orizanol. Calculando a recuperação utilizando a equação (8) temos que a recuperação de orizanol foi de 4,83 % do orizanol inicial, presente na RBOS e de 8,49 % do orizanol presente no insaponificável.

$$\text{Recuperação de orizanol(\%)} = M_{\text{orizanol final}}/M_{\text{orizanol inicial}} * 100 \quad (8)$$

O mesmo cálculo foi aplicado a todos os extratos obtidos e os valores se encontram na Tabela 17. A maior recuperação de orizanol ocorreu na pressão de 300 bar e temperatura de 45 °C, com valores de 6,26 % de recuperação do orizanol presente na RBOS e 11 % do material alimentado no extrator (insaponificável extraído da RBOS).

Nota-se que a recuperação do orizanol, quando se optou por extrair os insaponificáveis da RBOS antes de extrair supercriticamente, foi muito inferior à recuperação obtida quando se utilizou o saponificado da RBOS como material de alimentação no extrator supercrítico. Assim, além das dificuldades encontradas em trabalhar com o material insaponificável estes resultados mostram que utilizar o saponificado diretamente como material de alimentação no extrator supercrítico é mais vantajoso, visto que os valores de rendimento e teor de orizanol foram superiores. Isso se deve ao fato de não se formarem caminhos preferenciais, visíveis, quando se utiliza o saponificado da RBOS, enquanto que no insaponificável, possivelmente devido a consistências pastosa da mesma, o mesmo foi observado.

5.8.3 Inversão das isotermas de rendimento para ESC utilizando o saponificado da RBOS e do material insaponificável extraído da RBOS

As Figuras 21 e 22 apresentam, respectivamente, as isotermas de rendimento global da ESC do saponificado da RBOS e do insaponificável em função da pressão de operação conforme os dados das Tabelas 14 e 16. Como pode ser observado na Figura 20, a inversão das isotermas de rendimento da ESC do saponificado da RBOS ocorre na faixa de pressão de 240 bar a 270 bar, enquanto que para o material insaponificado extraído da RBOS (Figura 21) a inversão ocorre entre 120 e 130 bar. Deste modo, para pressões abaixo da faixa de inversão das isotermas, o efeito da

densidade é dominante sobre a solubilidade do soluto no solvente supercrítico fazendo com que o rendimento diminua com o aumento da temperatura. Porém, para pressões acima da faixa de inversão o efeito da pressão de vapor do soluto domina fazendo com que o rendimento aumente com o aumento da temperatura.

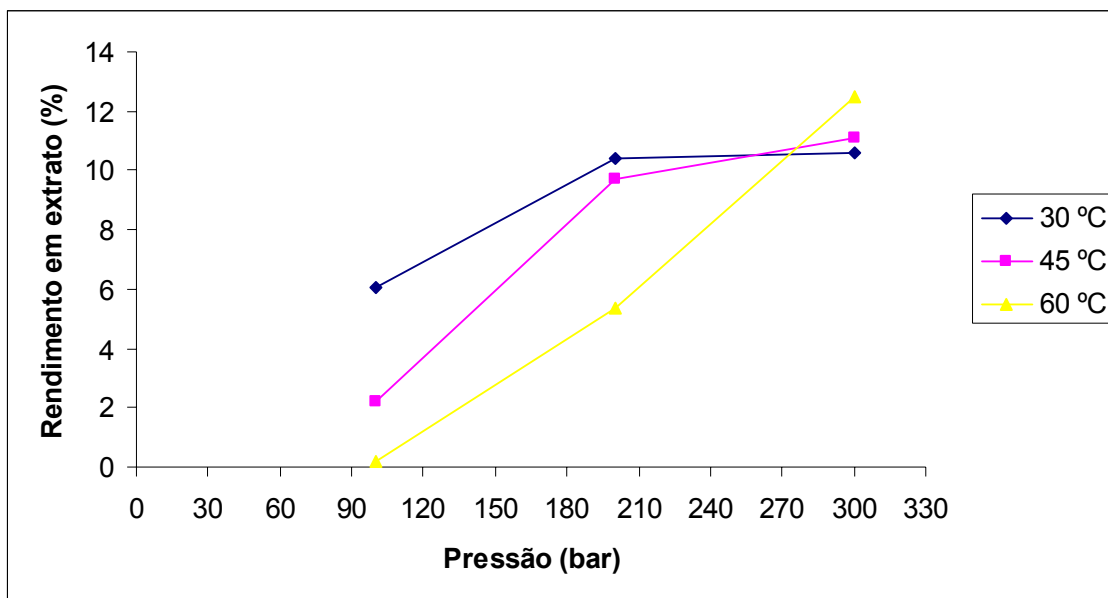


Figura 21 Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para a ESC da RBOS saponificada.

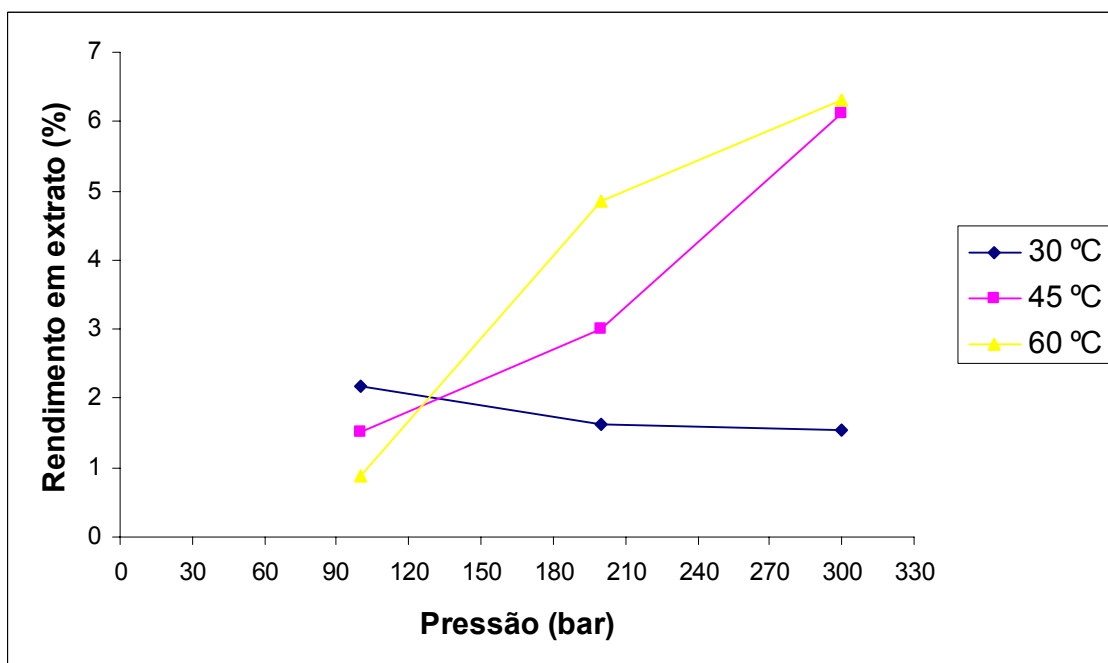


Figura 22 Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para a ESC do material insaponificável extraído da RBOS.

Observa-se, ao comparar os dois materiais de alimentação da ESC, que a faixa de inversão das isotermas na RBOS saponificada ocorreu numa pressão superior à ocorrida no material insaponificável, sendo que a inversão da RBOS saponificada ocorreu em pressões superiores às observadas por outros autores, utilizando outras matérias-primas e outras condições de pressão e temperatura. O fenômeno de inversão foi observado, também, por Michielin *et al.* (2005) para a oleoresina de cavalinha onde a inversão das isotermas de 30 °C e 40 °C ocorreu entre 120 bar e 150 bar. Genena (2005) observou que a inversão das isotermas (30 °C, 40 °C e 50 °C) para o extrato de alecrim ocorre a 165 bar.

5.8.4 Cinética e modelagem matemática da ESC utilizando o saponificado da RBOS e o material insaponificável extraído da RBOS

a) Cinética da ESC

A Figura 23 apresenta a curva de extração a 300 bar, 60 °C e vazão de 0,6 kg/h, representada pela massa de extrato acumulado, versus o tempo de extração, utilizando a RBOS saponificada. Como pode ser observado, para um tempo total de extração de aproximadamente 90 min, a curva já alcança a etapa de taxa decrescente de extração (FER).

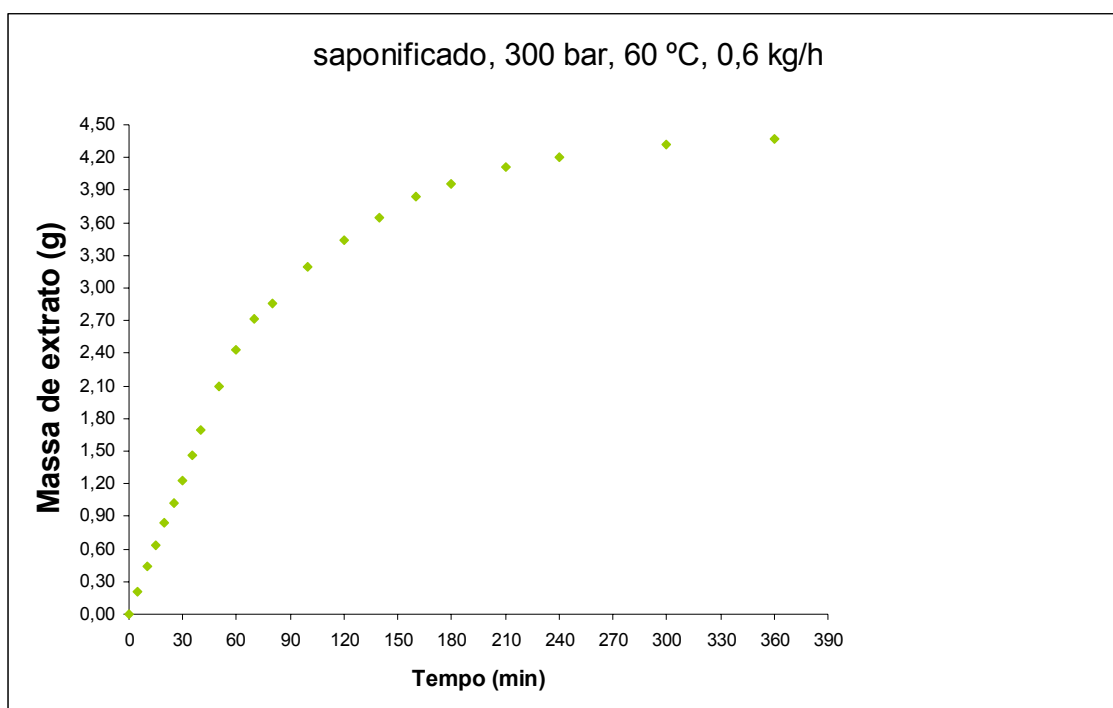


Figura 23 Curva de extração utilizando RBOS saponificada, nas condições de 300 bar, 60 °C e 0,6 kg/h.

Na Figura 24 pode-se observar a curva de extração a 300 bar, 60 °C e vazão de 0,6 kg/h, representada pela massa de extrato acumulado, versus o tempo de extração, utilizando a fração insaponificável da RBOS, onde a etapa FER é alcançada com aproximadamente 100 minutos de extração.

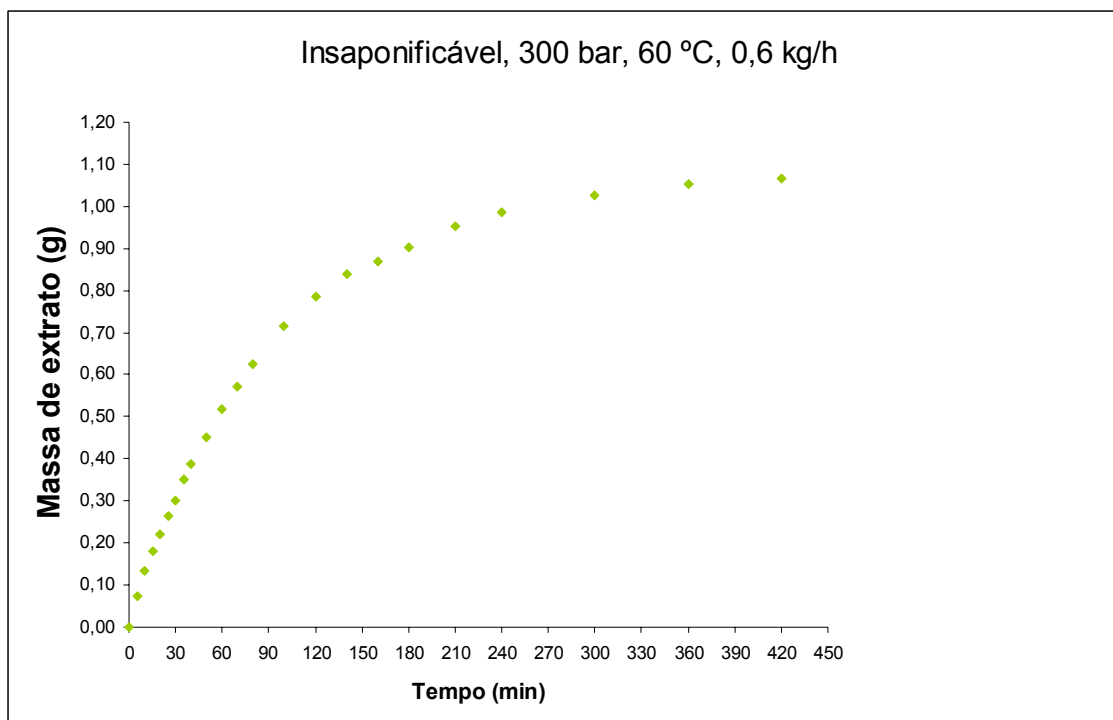


Figura 24 Curva de extração utilizando o material insaponificável extraído da RBOS nas condições de 300 bar, 60 °C e 0,6 kg/h.

Comparando as Figuras 23 e 24, a massa acumulada de extrato, quando se utiliza a RBOS saponificada, é quatro vezes maior que a massa acumulada ao utilizar a fração insaponificável da RBOS. Esta diferença pode ser explicada pelos canais preferenciais que se formam quando se utiliza a fração insaponificável, o que prejudica a extração. Estes canais são visivelmente percebidos, visto que a fração insaponificável possui consistência pastosa ficando ressecada e esbranquiçada somente na parte que teve contato com o solvente supercrítico.

Outro possível fator que explica a diferença entre os valores de massa acumulada é que parte dos compostos extraídos na ESC da RBOS saponificada podem ter sido extraídos com o solvente orgânico durante a extração dos insaponificáveis da RBOS ou até mesmo precipitados e separados por filtração durante o tratamento da fração insaponificável com solução de metanol-acetato (item 4.5). A diferença entre os materiais utilizados na ESC está no processo que os mesmos sofreram, sendo que a fração insaponificável da RBOS foi obtida por extração com solvente orgânico, a partir da RBOS saponificada, e foi posteriormente tratada com solventes e filtrada. Durante estes processos pode haver perda de parte dos compostos extraíveis na ESC, disponíveis na RBOS saponificada e removidas da fração insaponificável pelos processos pelas quais a mesma passou.

Os parâmetros t_{CER} (tempo de duração da etapa CER), M_{CER} (taxa de extração da etapa CER) e t_{FER} (tempo de duração da etapa FER) foram determinados utilizando o pacote estatístico SAS for Windows – versão 8.5 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) e são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 Tempo de duração das etapas CER e FER e taxa de extração na etapa CER.

Curva	t_{CER} (min)	t_{FER} (min)	M_{CER} (g/min)
Insaponificável	104,1	413,4	0,00708
Saponificado	85,9	360,0	0,04340

Observa-se na Tabela 18, ao comparar os diferentes materiais utilizados na ESC, que o t_{CER} e o t_{FER} para a fração insaponificável da RBOS são maiores, ou seja o tempo para atingir a etapa decrescente e posteriormente a etapa nula de extração é maior do que quando se utilizou o saponificado da RBOS. A M_{CER} , que representa a taxa de extração na etapa de taxa de extração constante, foi maior quando se utilizou o saponificado da RBOS, obtendo assim uma maior quantidade de extrato em um tempo menor de extração. Essas diferenças observadas podem ser devido às diferenças nas características dos materiais (a fração insaponificável da RBOS se apresenta na forma pastosa, dificultando a ESC e formando canais preferenciais) e na composição dos materiais (por sofrerem processos diferentes, alguns compostos podem estar presentes na RBOS saponificada e não estar presente na fração insaponificável da RBOS).

b) Modelagem Matemática

Para a modelagem das curvas de extração foi utilizado um modelo de transferência de massa baseado no balanço de massa do leite de extração: o modelo logístico (LM) apresentado por Martínez *et al.* (2003); um modelo baseado na analogia à transferência de calor, o modelo difusivo de placa (SSP) apresentado por Gaspar *et al.* (2003) e o modelo de Esquível *et al.* (1999).

As Figuras 25 e 26 apresentam as curvas de ESC experimentais e modeladas na Q_{CO_2} de 0,6 kg/h, nas condições de 300 bar de pressão e 60 °C de temperatura, para o saponificado da RBOS e a fração insaponificável extraída da RBOS, respectivamente.

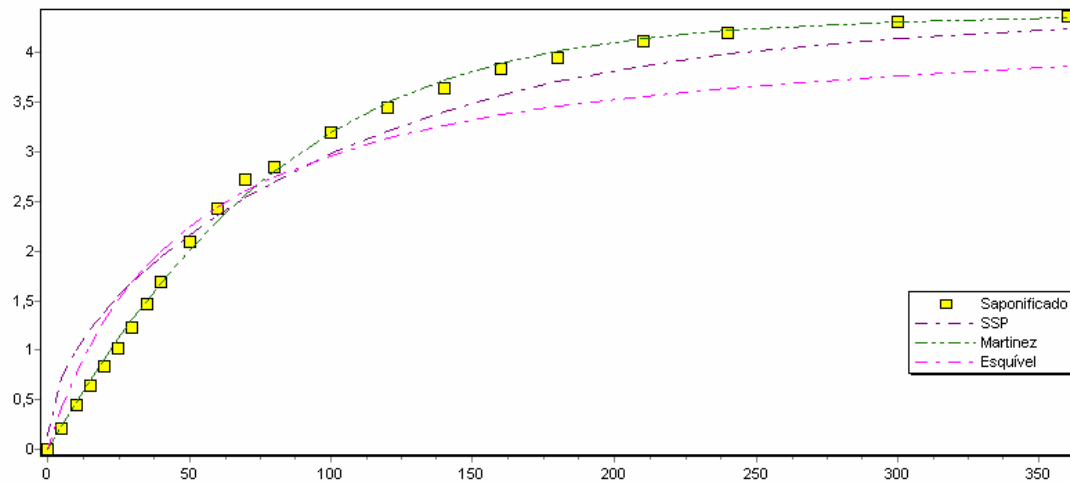


Figura 25 Curva experimental e modelada para a ESC da RBOS saponificada na vazão de CO_2 de 0,6 kg/h pressão de 300 bar e temperatura de 60 °C.

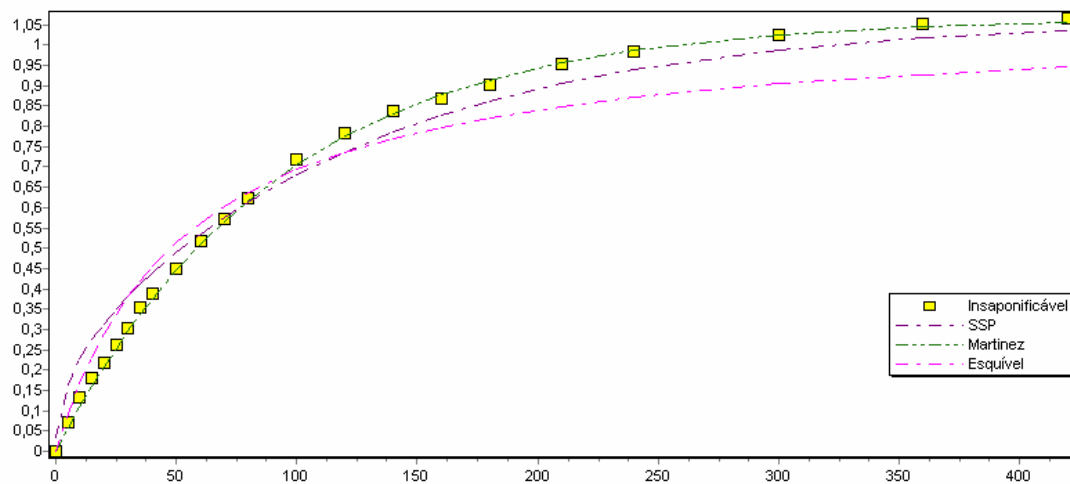


Figura 26 Curva experimental e modelada para ESC da fração insaponificável extraída da RBOS na vazão de CO_2 de 0,6 kg/h, pressão de 300 bar e temperatura de 60 °C.

A Tabela 19 apresenta os coeficientes, parâmetros ajustáveis e os erros médios quadráticos (EMQ) obtidos para os modelos utilizados.

Tabela 19 Coeficientes, parâmetros ajustáveis e o erro médio quadrático (EMQ) obtidos através de modelagem das curvas de ESC utilizando a RBOS saponificada e o insaponificável extraído da RBOS.

Extrato	Esquível		Logístico			SSP	
	b (m ² /min)	EMQ	b (min ⁻¹)	t _m (min)	EMQ	D _m (m ² /min)	EMQ
RBOS saponificada	47,28	0,145	0,0159	-54,56	0,0042	5,39 E-13	0,109
insaponificável	53,78	0,005	0,0108	-4089,3	0,0001	4,63 E-13	0,003

Através dos dados apresentados nas Figuras 25 e 26 e na Tabela 18, pode-se dizer que o modelo LM apresentou o melhor ajuste às curvas de ESC da fração insaponificável e da RBOS saponificada. Isto se deve provavelmente por este modelo possuir dois parâmetros ajustáveis (b e t_m) enquanto os demais que possuem apenas um. O modelo que teve o pior ajuste às duas curvas foi o modelo de Esquível et al. (1999).

O parâmetro ajustável t_m, do modelo Logístico, corresponde ao tempo em que a taxa de extração é máxima. Nas curvas o valor deste parâmetro foi negativo, perdendo seu significado físico. Nestes casos, a taxa de extração é decrescente, ou seja, tem o seu valor máximo no instante inicial da extração (MARTÍNEZ et al., 2003).

Observa-se na Tabela 18 que ao comparar o EMQ, de todos os modelos, para os dois tipos de material utilizado na ESC, os valores encontrados para a fração insaponificável foram menores, ou seja, os modelos tiveram um melhor ajuste quando se utilizou a fração insaponificável extraída da RBOS.

6. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste trabalho para recuperação do orizanol presente na borra de neutralização do óleo de farelo de arroz pode-se concluir que:

As melhores condições de saponificação e secagem da RBOS, para posterior extração do orizanol, foram utilizando aquecimento em banho-maria, a 90 °C e secagem até umidade inferior a 3 %. O rendimento de saponificação foi de 41,06 % ± 4,34 %.

Quanto à extração da fração insaponificável da RBOS, o rendimento da extração não variou significativamente entre os tempos de 4 h, 6 h e 8 h, sendo que o mesmo ficou entre 10,69 % ± 0,45 % e 11,69 % ± 0,66 %.

O teor de orizanol na fração insaponificável, pós-tratamento com solução de acetato de etila foi de 5,6 %. A perda de orizanol desde a RBOS até esta etapa foi de 68%, mostrando que este método não foi eficiente para recuperação do orizanol desta RBOS.

As etapas de purificação do orizanol utilizando coluna cromatográfica e cristalização do orizanol não foram eficientes para este tipo de RBOS, sendo que houve perda de orizanol durante estes processos.

A ESC da RBOS saponificada permitiu a recuperação de 69,00 % do orizanol presente na RBOS, sendo que o mesmo foi obtido com teor de 16 %. As condições que proporcionaram a maior recuperação e teor de orizanol foram a 300 bar e 60 °C, sendo que o maior rendimento de extrato também ocorreu nestas condições. A pressão de 100 bar e temperaturas de 45 °C e 60 °C proporcionaram o menor rendimento de orizanol.

A utilização da fração insaponificável extraída da RBOS na ESC não foi eficiente, sendo que a melhor recuperação de orizanol foi de 6,26 %, com teor de 9,9 % de orizanol nas condições de 300 bar e 45 °C.

O modelo que apresentou o melhor ajuste às curvas de ESC da RBOS saponificada e da fração insaponificável extraída da RBOS foi o modelo LM, provavelmente por possuir dois parâmetros ajustáveis, sendo que os modelos se ajustaram melhor as curvas da fração insaponificável da RBOS.

É possível o uso da tecnologia supercrítica para recuperação do orizanol presente na RBOS, no entanto nota-se necessário testar condições de pressão e temperaturas mais elevadas para verificar a máxima recuperação do orizanol

utilizando ESC. A combinação de processos de separação, junto com a ESC, é necessária para purificação do orizanol dos extratos da ESC, visto que a pureza máxima obtida foi de 16 %.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Testar novos solventes para extração da fração insaponificável da RBOS, como o éter etílico.
- Testar novas metodologias de cristalização para purificação do orizanol presente na RBOS e do orizanol presente nos extratos da ESC.
- Utilizar solventes como o acetato de etila, metil-etil-cetona, entre outros em que o orizanol possua uma alta solubilidade, de cossolvente na ESC da fração insaponificável da RBOS para aumentar a recuperação de orizanol.
- Utilizar outros processos de separação para purificação do orizanol obtido nos extratos da ESC, como, por exemplo, membranas.
- Utilizar a ESC seguida de adsorção em leito com alumina ou sílica para obtenção de uma fração enriquecida de orizanol.
- Analisar a composição dos extratos da ESC para obter o perfil químico dos mesmos.
- Analisar o poder antioxidante dos extratos obtidos, utilizando o método do radical livre DPPH e outras metodologias.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-HAMID, A.; LUAN, Y. S. Functional properties of dietary prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**. 68, p. 15-19, 2000.

Aboissa óleos vegetais. Disponível em <http://www.aboissa.com.br>. Acesso em 23. nov. 2006

ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. V.; KRISHNA, A. G. G.; VARADARJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidant and lipid oxidation in foods – A critical appraisal. **Journal Food Science Technology**. v. 35, n. 4, 1998.

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

A.O.A.C. – **Association of Oficial Agricultural Chemists. Official methods of analysis**. 11ª ed., Washington. D.C., Editora Arlington, 1990.

ARAÚJO, J.M.A.; **Química de Alimentos**. 2ª ed., Viçosa, Editora UFV, 2001.

AZEREDO, M. S. L. **Análise dos custos de extração e refino do óleo de arroz em função dos teores de óleo e de acidez do farelo**. Santa Maria, 1992. Tese de mestrado em Engenharia de Produção. Centro Tecnológico. Universidade Federal de Santa Maria – UFSM.

BENITES, C. I. **Farinha de silagem de resíduo de pescado: elaboração, complementação com farelo de arroz e avaliação biológica em diferentes espécies**. Rio Grande, 2003. Tese de mestrado em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos. Fundação Universidade Federal de Rio Grande – FURG.

BERNARDO-GIL, M.G., GRENHA, J., SANTOS, J., CARDOSO, P. Supercritical fluid extraction and characterisation of oil from hazelnut. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, n. 7, pp. 402-409, 2002.

BRENNECKE, J.F.; ECKERT, C.A. Phase equilibria for supercritical fluids process design. **American Institute of Chemical Engineers**, v. 35, p. 1409-1427, 1989.

BRUNNER, G. **Gás extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluid and the applications to separation processes**. 1ª ed. Darstadt, Alemanha: Steinkopff, 1994.

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

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 22.set.2005.

CARVALHO JÚNIOR, R. **Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo**. Campinas, 2004. Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

CORREIA, J.; MICHIELIN, E.M.Z.; FERREIRA, S.R.S. **Estudo de modelos de transferência de massa para processos de extração supercrítica**. Florianópolis: 2006. 31 p. Relatório de iniciação científica (PIBIC- CNPQ). Departamento de Engenharia Química e de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

COSTA, C.; FRANÇA, V. Alternativas alimentares: soluções nutritivas baratas e regionais para combater a fome. São Paulo: **Revista Pólis**, 1993.

CÚNEO, F. **Fitatos em farelo de arroz estabilizado e seu efeito repressor sobre a absorção de chumbo pelo rato**. Campinas, 1999. Tese de Doutorado em Ciência de

DAS, P.K.; CHAUDHURI, A.; KAIMAL, T.N.B.; BHALERAO, U.T. Isolation of γ -oryzanol through calcium ion induced precipitation of anionic micellar aggregates. **Journal Agriculture food Chemistry**. V. 46, n. 8, p. 3073-3080, 1998.

DUNFORD, N. T.; TEEL, J. A.; KING, J. W. Supercritical carbon dioxide fractionation of crude rice bran oil using a packed column with characterization of the resultant fractions. **Supercritical Fluids for Sustainable Technology, 5th International Symposium on Supercritical Fluids**, April 8 -12, 2000, Atlanta, Georgia. p. 1-10, 2000.

DUNFORD, N. T.; TEEL, J. A.; KING, J. W. A continuous countercurrent supercritical fluid deacidification process for phytosterol ester fortification in rice bran oil. **Food Research International**, v. 36, p. 175-181, 2002.

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

EVERSHED, R.P.; SPOONER, N.; PRESCOTT, M.C.; GOALD, L.J.; Isolation and characterization of intact steryl ferulates from seeds. **Journal of Chromatography**. Amsterdam, v. 440, p. 23-35, 1998.

FAO – Food And Agriculture Organization. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 11.abril.2005.

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

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

FOOD AND NUTRITION BOARD. National Academy of Sciences. RDA – **Recommended Dietary Allowances**. 9. ed. Washington DC: National Academy of Sciences, 1980, p. 43.

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

GENENA, A.K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*): estudo de sua ação antioxidante**. Florianópolis, 2005. Tese de mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

GRAF, E.; Antioxidant Potential of ferulic acid. **Free Radical Biology e Medicine**. v. 13, p. 345-448, 1992.

GUHE, V. D.; BHOWMICK, D. N. Evidence of Maillard reaction in darkening of rice bran oil. **Journal of the Oil Technology Association of India**, v. 30, n. 5, p. 117 – 120, 1998.

INDIRA, T. N.; NARAYAN, A. V.; BARHATE, R. S.; RAGHAVARAO, K. S. M. S.; KHATOON, S.; GOPAL, C.; APPURAO, A. G.; PRAKASH, V. Procees for the production of orizanol enriched fraction from rice bran oil soapstock, **US Patent 6896911**, 2005.

IRGA – Instituto Rio Grandense do Arroz. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br>. Acesso em: 04.abr.2005.

JAHN, G.B. **Extração supercrítica do óleo de farelo de arroz e obtenção de frações enriquecidas em γ -orizanol**. Florianópolis: UFSC, 2004. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

JULIANO, C.; COSSU, M.; ALAMANNI, M. C.; PIU, L. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 299, p. 146 – 154, 2005

KIM, H.-J.; LEE, S. -B.; PARK, K. - A.; HONG, I. -K. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process. **Separation and Purification Technology**, v. 15, p. 1-8, 1999.

KUK, M. S.; DOWD, M. K. Supercritical CO₂ extraction of rice bran. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, n. 5, p. 623-628, 1998.

LANÇAS, F.M., RUGGIERO, M.A. On-line coupling of supercritical fluid extraction to capillary column electrodriven separation techniques. **Journal of Microcolumn Separations**, v. 12, n. 2, pp. 61-67, 2000.

LUPO, M. P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. **Clinical Dermatology**, v. 19, p. 467 – 473, 2001.

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

MARTÍNEZ, J. ; ROSA, P. T. V ; MENUT, C. ; LEYDET, A. ; BRAT, P. ; PALLET, D.; MEIRELES, M. A. A. Valorization of Brazilian Vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash ex Small) Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, 2004.

MARTÍNEZ, J.; ROSA, P. T. V. ; MEIRELES, M. A. A. . A Scale-Up Method for the Extraction of Clove and Vetiver Oils with Supercritical carbon Dioxide. In: **7th International Symposium on Supercritical Fluids**, 2005, Orlando, 2005.

MARTÍNEZ, J. **Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO₂ supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos**. Campinas, 2005. Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

MASSARO, A. F. **Enriquecimento protéico de farelo de arroz desengordurado, som sangue bovino, utilizando a técnica de leite de jorro**. Rio Grande. 2001. Tese de mestrado em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos. Fundação Universidade Federal de Rio Grande – FURG.

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

MOORE, S.; SAMDANI, S.; ONDREY, G.; PARKINSON, G. New roles for supercritical. **Chemical engineering**, p. 32-35, march, 1994.

MORETTO, E.; FETT, R. A. **Óleos e Gorduras Vegetais - Processamento e Análises**. 2^a ed., Editora UFSC, Florianópolis, 1986.

MORETTO, E.; FETT, R. A. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. Livraria varela, São Paulo, 1998.

MOUREAU, R. A.; POWELL, M. J.; HICKS, K. B. Extraction and quantitative analysis of oil from commercial corn fiber. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 44, n. 8, 1996.

NANUA, J.N.; MCGREGOR, J.U.; GODBER, J.S. Influence of high-oryz rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 2426-2431, 2000.

NARAYAN, A. V.; BARHATE, R. S.; INDIRA, T. N.; KAUL, P.; RAGHAVARAO, K. S. M. S.; APPURAO, A. G.; PRAKASH, V. A simple process for the crystallization of orizanol from orizanol enriched fraction, **Brazil Patent 200215991**, 2005.

NARAYAN, A. V.; BARHATE, R. S.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Extraction and purification of orizanol from rice bran oil and rice bran oil soapstock. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 83, n. 8, p. 663-670, 2006.

ORTHOEFER, F. T.; Rice bran oil: Healthy lipid source. **Food Technology**, Chicago, v. 50, n. 12, 1996.

PERRETTI, G.; MINIATI, E.; MONTANARI, L. FANTOZZI, P. Improving the value of rice by-products by SFE. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 26, p. 63-7, 2002.

RAO, K.V.S.A.; RAO, B.V.S.K.; THENGUMPILLIL, N.B.K. Processes for the isolation of oryzanols from rice bran oil soap stock. **United States Patent 6410762**, 2002.

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

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

RODRIGUES, V. M.; MARQUES, M. O.; MEIRELES, M. A. A. Evaluation of the chemical composition of clove (*Eugenia caryophyllus*) essential oil obtained by SCFE. **The 4th International Symposium on Supercritical Fluids**, 1997.

ROGERS, E. J.; RICE, S.M.; NICOLOSI, R. J.; CARPENTER, D. R.; MCCLELLAND, C. A.; ROMANCZYK JR, L. J. Identification and quantification of gamma-oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 70, n. 3, 1993.

SAITO, M.; YAMAUCHI, Y.; OKUYAMA, T. Fractionation by packed-column SFC and SFE. **VCH; Weinheim; New York; Basel; Cambridge; Tokyo**, 1994.

SALES, A. M.; SALVA, T. J. G.; MENEZES, T. J. B. Incorporação de Biomassa Fúngica em Resíduos Agroindustriais por fermentação submersa. Campinas: **Coletânea ITAL**, v. 17(2), p. 141-146, 1988.

SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; ADSULE, R. N.; KADAN, S. S. Rice World oilseeds. **Chemistry, technology and utilization**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

SARMENTO, C.M.P. **Extração supercrítica de óleo de farelo de arroz e obtenção de frações enriquecidas em tocoferóis e tocotrienóis**. Florianópolis: UFSC, 2002. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

SASKA, M.; ROSSITER, G.J. Recovery of gamma-oryzanol from rice bran oil with silica based continuous chromatography. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, n. 10, p. 1421 – 1427, 1998.

SCARAVARIELLO, E.M.S.; ARELLANO, D.B. γ -oryzanol: un importante componente del aceite de salvado de arroz. **Archivos latino Americanos de Nutricion**. v. 48 n. 1, 1998.

SCARAVARIELLO, E.M.S. **Modificação química e enzimática da borra de neutralização do óleo de farelo de arroz**. Campinas: UNICAMP, 2002. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

SEETHARAMAIAH, G. S.; PRABHAKAR, J. V. Oryzanol content of Indian rice bran oil and its extraction from soap stock. **Journal of Food Science and Technology**, v. 23, sept./oct, 1986.

SEITZ, L. M. Stanol and sterol esters of ferulic and p – coumaric acids in wheat, corn, rye and triticale. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 37, p. 662 – 667, 1989.

SGARBIERI, V. C. Proteínas em Alimentos: Protéicos - Propriedades - Degradações - Modificações. **São Paulo: Varela**, 515p, 1996.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Mysore, v. 23, n. 5, p. 270-273, 1986.

SINDARROZ-SC - Sindicato da Indústria de Arroz no Estado de Santa Catarina, Disponível em: <http://www.sindarroz-sc.com.br>. Acesso em: 09.fev.2007.

SILVA, M. A. A. **Apostila de Química Orgânica Experimental I**. Universidade Federal Fluminense – UFF, 2003.

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

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

SUTTER, L.E.D.N.; SILVA, M.F.F.; CASSEL, E. Extração supercrítica, uma nova tecnologia industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 14, p. 3-10, 1994

TSUNO RICE FINE CHEMICAL CO., **Gama-oryzanol, a naturally derived food antioxidant**. Wakayama, Japan, 1995.

VAQUERO, E. M.; BELTRÁN, S.; SANZ, M. T. Extraction of fat from pigskin with supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 37, 2006.

XU, Z.; GODBER, J. S. Purification and identification of components of gama-oryzanol in rice bran oil. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 47, p. 2724 – 2728, 1999.

XU, Z.; GODBER, J. S. Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting γ -orizanol from rice bran. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 77, n. 5, p. 547-551, 2000.

XU, Z.; GODBER, J. S. Antioxidant activities of major components of gama-oryzanol from rice bran using a linolenic acid model. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 78, n. 6, 2001.

WIKIPEDIA – A enciclopédia livre. Disponível em: <http://www.wikipedia.org.br>. Acesso em: 07.jan.2006.

ZHAO, W.; SHISHIKURA, K.; FUJIMOTO, K.; ARAI, K.; SAITO, S. Fractional extraction of rice bran oil with supercritical carbondioxide. **Agricultural Biol. Chemistry**, v. 51, p. 1773 – 1777, 1987.