UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NAYARA KASTEM SCHARLACK

**Estudo do efeito do tipo e grau de hidratação de solventes
alcoólicos na extração simultânea de óleo e de ácidos
clorogênicos de torta de sementes de girassol**

Pirassununga

2015

NAYARA KASTEM SCHARLACK

**Estudo do efeito do tipo e grau de hidratação de solventes
alcoólicos na extração simultânea de óleo e de ácidos
clorogênicos de torta de sementes de girassol**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade
de Zootecnia e Engenharia de
Alimentos da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para
a obtenção do Título de Mestre em
Ciências da Engenharia de Alimentos.

Área de concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Christianne
Elisabete da Costa Rodrigues

Pirassununga

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

S311e	<p>Scharlack, Nayara Kastem</p> <p>Estudo do efeito do tipo e grau de hidratação de solventes alcoólicos na extração simultânea de óleo e de ácidos clorogênicos de torta de sementes de girassol / Nayara Kastem Scharlack. -- Pirassununga, 2015. 126 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Alimentos.</p> <p>Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Christianne Elisabete da Costa Rodrigues.</p> <p>1. Extração sólido-líquido 2. Etanol 3. Isopropanol 4. Compostos minoritários 5. Estabilidade oxidativa. I. Título.</p>
-------	---

*“As nuvens mudam sempre de posição,
mas são sempre nuvens no céu.
Assim devemos ser todo dia, mutantes,
porém leais com o que pensamos e sonhamos;
lembre-se, tudo se desmancha no ar,
menos os pensamentos”.*

Paulo Beleki

*Dedico este trabalho aos meus pais, João Carlos e Ivanílza, e minha
irmã, Natália.*

À eles todo o meu carinho e amor!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, a minha família e aos meus amigos que sempre nos momentos difíceis estiveram ao meu lado me incentivando e acreditando em mim.

Agradeço a Christianne Elisabete da Costa Rodrigues, minha orientadora, que desde o primeiro dia me acolheu de braços abertos, pela confiança, paciência, pela oportunidade e pelo meu crescimento profissional.

A técnica do laboratório Keila Kazue Aracava, por toda a ajuda prestada durante este trabalho e pela amizade. Agradeço também os meus colegas do Laboratório de Engenharia de Separações (LES- FZEA/ USP) por todos os momentos de descontração e parceria.

Agradeço a CAPES pela concessão da bolsa de estudos, e a FAPESP, pelo apoio financeiro a pesquisa (processo 2014/09446-4).

A empresa Caramuru Alimentos S/A, Sr. Ricardo Silva Rodrigues, pela doação de torta de sementes de girassol e pelo óleo bruto de girassol.

Ao Laboratório de Extração Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio DEA/FEA/ UNICAMP, Prof. Dr. Antônio J. de A. Meirelles e a doutoranda Marina Ansolin, pelas análises em UPLC-MS.

Ao Laboratório Multidisciplinar de Alimentos ZEA/FZEA/USP, Profa. Izabel C. F. Moraes e a técnica Carla A. Monaco, pelas análises de estabilidade oxidativa.

Agradeço a participação dos membros componentes da banca examinadora pelas importantes contribuições.

RESUMO

SCHARLACK, N. K. **Estudo do efeito do tipo e grau de hidratação de solventes alcoólicos na extração simultânea de óleo e de ácidos clorogênicos de torta de sementes de girassol**. 2015. 126 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Nos dias atuais, a preocupação com o meio ambiente vem ocupando espaço considerável nos principais centros de debates. A procura por solventes provenientes de fontes renováveis que possam substituir solventes de origem fóssil em processos industriais se faz necessária. Tradicionalmente o hexano, derivado do petróleo, é utilizado como extratante industrial de óleos de matrizes oleaginosas, no entanto, este solvente apresenta desvantagens em termos de segurança operacional devido à alta toxicidade e inflamabilidade. Neste contexto, a presente dissertação de mestrado objetivou avaliar a viabilidade técnica da substituição do hexano por solventes alcoólicos, etanol e isopropanol na extração do óleo da torta de prensagem de sementes de girassol. A influência das variáveis tipo e grau de hidratação do solvente alcoólico e temperatura foi avaliada sobre a composição em ácidos graxos, a estabilidade oxidativa do óleo extraído e o teor de ácidos clorogênicos, tocoferóis e fosfolipídeos. A matéria prima foi submetida ao processo de extração sólido-líquido em um simples estágio, utilizando os solventes em grau absoluto e hidratado, nas temperaturas de 60 a 90 °C, sendo objetivo de estudo o rendimento do óleo, o teor de proteína em base seca, índice de retenção, teor de água na fase extrato e teor de ácidos clorogênicos. Extrações sequenciais empregando três estágios na temperatura de 90 °C também foram realizadas para avaliar o teor de óleo residual, extração de ácidos clorogênicos, avaliação da estabilidade oxidativa e determinação dos teores de tocoferóis e fosfolipídeos. Em linhas gerais, pode-se inferir que a hidratação do solvente afetou de forma negativa o rendimento da extração e observou-se também que com o aumento da temperatura, aumenta-se a quantidade de material lipídico extraído. O teor de água no solvente favoreceu a extração dos ácidos clorogênicos, sendo que a temperatura não exerceu influência sobre estes resultados. Quando avaliada a extração de tocoferóis, pode-se notar que os

solventes isopropanol (absoluto e hidratado) e etanol absoluto possibilitaram maior extração de α tocoferol quando comparados ao etanol azeotrópico. No entanto, os teores de tocoferóis nos óleos extraídos com álcoois foram inferiores aos detectados nos óleos obtidos com hexano. Na avaliação da estabilidade oxidativa pode-se observar que os óleos extraídos com etanol absoluto e azeotrópico apresentaram estatisticamente o mesmo tempo de indução, fato este que pode estar relacionado aos altos teores de fósforo detectados nos óleos obtidos com estes solventes etanólicos, sugerindo assim que estes solventes são capazes de extrair compostos minoritários que atribuem maior estabilidade oxidativa ao óleo.

Palavras-chave: extração sólido-líquido; etanol; isopropanol; compostos minoritários; estabilidade oxidativa.

ABSTRACT

SCHARLACK, N. K. **Study of the effect of the type and level of hydratation of alcoholic solvents in simultaneous extraction of oils and chlorogenic acids from the meal of sunflower seed.** 2015. 126 f. M. Sc. Dissertation – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2015.

Nowadays, the concern regarding the environment has taken a considerable amount of space at the main debate centers. The search for solvents which come from renewable sources that are capable of replacing solvents that come from fossils in industrial processes is paramount. Traditionally the hexane derived from oil is used as an industrial solvent for oleaginous sources. However this solvent presents some disadvantages in terms of operational safety due to the high toxicity and inflammability. In this context, this master's dissertation has aimed to evaluate the technical viability of the replacement of hexane for alcoholic solvents, ethanol and isopropanol in oil extraction from the meal obtained in the pressing stage of sunflower seeds. The influence of the type and level of hydration of the alcoholic solvents and temperature has been evaluated over the composition in fatty acids, the oxidative stability of the extracted oil, the level of chlorogenic acids, of tocopherols and phospholipids. The meal was submitted to the solid-liquid extraction process in one single stage, using the solvents in absolute and hydrated grade from 60 up to 90 °C, hence the purpose of this study the yield of the oil, the protein level in dry basis, mass of adhered solution (retention index), water level in the extract phase and the chlorogenic acids content. Consecutive extractions applying three stages at 90 °C have also been performed to evaluate the residual oil content, chlorogenic acids yield, evaluation of oxidative stability and the contents of tocopherols and phospholipids. In summary, it can be concluded that the solvent hydration has affected in a negative fashion the performance of the extraction and it was also noticed that, with the rising in temperature, the amount of lipid extract was increased. The level of water in the solvent has favored the extraction of chlorogenic acids since the temperature has not affected the results. Once the tocopherol extractions are analyzed, it is possible to verify that the isopropanol solvents (absolute and hydrated) and absolute ethanol have enabled a larger extraction of α tocopherol when compared to

azeotropic ethanol. However, the levels of tocopherol extracted from alcohols were less than the ones obtained from hexane. In the oxidative stability evaluation it was possible to observe that the oils extracted from absolute and azeotropic ethanol have presented statistically the same induction time, a fact which can be related to high levels of phosphorus detected in the oils obtained from ethanol solvents which suggest that such solvents are capable of extracting minor compounds that attribute more oxidative stability to the oil.

Key-words: solid-liquid extraction; ethanol; isopropanol; minor compounds; oxidative stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia do aquênio de girassol.....	18
Figura 2. Diferenças entre sementes de girassol conforme o ambiente de crescimento.....	20
Figura 3. Semente pré-tratada para extração de óleo	23
Figura 4. Produção de óleo bruto de girassol.....	23
Figura 5. Consumo Mundial de Óleos vegetais no mundo	30
Figura 6. Estrutura molecular dos ácidos clorogênicos	36
Figura 7. (a) Extrator composto por manômetro, válvula de escape e rotor. (b) Cesto de aço inoxidável para acondicionamento da torta.	55
Figura 8. Esquema da extração sequencial em três estágios.	56
Figura 9. Torta de sementes de girassol cedida pela Caramuru Alimentos Ltda.	63
Figura 10. Índice de retenção em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.....	68
Figura 11. Teor de água na fase extrato em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.....	71
Figura 12. Rendimento da extração de óleo da torta de sementes de girassol (g óleo / 100 g de torta) em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.	74
Figura 13. Rendimento de extração de óleo da torta de sementes de girassol (%) em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.	76
Figura 14. Teor de proteínas da fase refinado comparado ao teor de proteínas da torta inicial ($20,86 \pm 0,08\%$, em base seca), em função da temperatura de processo.....	78

Figura 15. Teor de ácidos clorogênicos presentes no óleo de sementes de girassol (%), em função da temperatura de processo	82
Figura 16. Rendimento de extração de óleo, na temperatura de 90 °C, para os diferentes solventes, para diferentes estágios da extração sequencial.....	88
Figura 18. Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Amplitude e variação de características da planta de girassol.....	19
Tabela 2. Composição centesimal média de sementes oleosas de girassol ...	20
Tabela 3. Composição mineral média (mg/100g) de sementes de girassol.....	21
Tabela 4. Principais países produtores de girassol do ano de 2011 a 2014	21
Tabela 5. Características dos solventes hexano, etanol e isopropanol	26
Tabela 6. Extração do óleo de soja em diferentes condições	27
Tabela 7. Características do óleo de soja obtido por diferentes solventes	27
Tabela 8. Perfil de ácidos graxos do óleo de girassol	32
Tabela 9. Composição bromatológica da torta de girassol descorticada e não descorticada	33
Tabela 10. Composição do farelo de girassol obtido por extração com solvente	34
Tabela 11. Composições bromatológicas de torta e farelo de girassol	35
Tabela 12. Características dos métodos de determinação de estabilidade oxidativa	43
Tabela 13. Caracterização dos óleos obtidos do gérmen de milho (CG) e do resíduo seco de destilaria (DDGS) e a estabilidade oxidativa (110 °C)	45
Tabela 14. Atividades experimentais realizadas na execução da dissertação de mestrado	52
Tabela 15. Composição química da torta de sementes de girassol	64
Tabela 16. Composição em ácidos graxos do óleo contido na torta de sementes de girassol	65
Tabela 17. Desvios obtidos para os experimentos de extração sólido-líquido em um estágio	66
Tabela 18. Condições experimentais empregadas nos experimentos de extração sólido-líquido em um estágio	67
Tabela 19. Índice de retenção (kg solução aderida / kg sólidos inertes) da fase refinado para diferentes condições de extração	69
Tabela 20. Teor de água na fase extrato (% , em massa) para diferentes condições de extração	72
Tabela 21. Rendimento médio de óleo (g óleo / 100 g de torta de sementes de girassol) para diferentes condições de extração	74

Tabela 22. Teor de proteínas na fase refinado (% , em base seca) para diferentes condições de extração.....	79
Tabela 23. Teor de ácidos clorogênicos presentes no óleo de sementes de girassol (%), em diferentes condições experimentais	81
Tabela 24. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na temperatura de 60 °C	85
Tabela 25. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na temperatura de 90 °C	86
Tabela 26. Condições experimentais empregadas nos experimentos de.....	89
extração em correntes cruzadas, em três estágios	89
Tabela 27. Teor de óleo residual (%) nas fases refinado provenientes dos diferentes estágios de extração.....	90
Tabela 28. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na condição de extração em três estágios, na temperatura de 90 °C	92
Tabela 29. Teor de ácidos clorogênicos nos óleos obtidos das extrações sequenciais em três estágios, a 90 °C, com solventes alcoólicos e nos óleos bruto e refinado, obtidos industrialmente com solvente hexano.....	94
Tabela 30. Teor de ACG residual na fase refinado e rendimento total de extração de ácidos clorogênicos para a fase extrato	97
Tabela 31. Teores de tocoferóis e tocotrienóis presentes nos óleos obtidos utilizando solventes alcoólicos, a 90 °C, óleo bruto e óleo refinado comercial	100
Tabela 32. Tempo de indução (h) fornecido pelo equipamento Rancimat para os óleos extraídos nas diferentes condições experimentais	106
Tabela 33. Teor de fósforo e fosfolipídeos para os óleos obtidos via extração alcoólica, a 90 °C, e óleos bruto e refinado	109

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 <i>Matéria-prima girassol.....</i>	18
2.2 <i>Processos para obtenção de óleos vegetais: Extração com solventes...</i>	22
2.3 <i>Óleo de girassol</i>	29
2.4 <i>Farelo desengordurado e torta de sementes de girassol</i>	33
2.5 <i>Ácidos clorogênicos</i>	36
2.6 <i>Estabilidade oxidativa</i>	41
3. OBJETIVOS	47
4. MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1 <i>Materiais</i>	48
4.1.1 <i>Reagentes</i>	48
4.1.2 <i>Equipamentos.....</i>	49
4.1.3 <i>Diversos.....</i>	50
4.2 <i>Métodos</i>	51
4.2.1 <i>Caracterização da matéria-prima, torta de girassol.</i>	51
4.2.2 <i>Composição em ácidos graxos.....</i>	53
4.2.3 <i>Extração de ácidos clorogênicos totais presentes na torta de sementes de girassol.....</i>	53
4.2.4 <i>Extração sólido-líquido em um estágio utilizando solventes alcoólicos</i>	54
4.2.5 <i>Extração sequencial, em correntes cruzadas, para obtenção de óleo de torta de sementes de girassol.....</i>	56
4.2.6 <i>Determinação do teor de água</i>	57
4.2.7 <i>Determinação do conteúdo de solvente.....</i>	57
4.2.8 <i>Determinação do teor de ácidos clorogênicos</i>	58
4.2.9 <i>Determinação do teor de tocoferóis</i>	58
4.2.10 <i>Determinação do teor de fósforo.....</i>	59
4.2.11 <i>Avaliação da estabilidade oxidativa</i>	59
4.2.12 <i>Determinação do teor de proteínas na fase refinado</i>	59
4.2.13 <i>Determinação do teor de óleo residual na fase refinado.....</i>	60
4.2.14 <i>Determinação do índice de retenção</i>	60

4.2.15 Cálculos de balanço de massa para avaliação da qualidade dos dados experimentais.....	60
4.2.16 Análise estatística.....	62
4.2.17 Estimativa das incertezas por propagação de erros.....	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 Caracterização da matéria-prima.....	63
5.2 Avaliação da qualidade dos dados experimentais	65
5.3 Estudo do processo de extração sólido-líquido em um estágio	66
5.3.1 Índice de retenção	68
5.3.2 Composição das fases extrato e refinado.....	71
5.4 Extração sequencial em correntes cruzadas	89
6. CONCLUSÕES	112
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	114
8. REFERÊNCIAS	115
9. APÊNDICE	126

1. INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é considerado uma dicotiledônea pertencente à família *Asteraceae*, nativa da América do Norte. Até o século XVII foi cultivado como planta ornamental e medicinal, hoje também é utilizado como fonte de alimentos (REGITANO-D'ARCE, 1985; TELLES, 2006; HAMED et al., 2012).

Ganhou grande importância econômica após a Segunda Guerra Mundial e nos dias atuais se encontra entre as cinco maiores fontes mundiais de óleos vegetais, atrás da soja (56,3 %), da canola (11,7 %), do algodão (10,5 %) e do amendoim (9,6 %) (EMBRAPA, 2014).

Os maiores produtores de girassol são Rússia, Ucrânia, Argentina e Índia, com produção mundial estimada de 40,3 milhões de toneladas para a safra 2013/2014 (CONAB, 2014). A produção de girassol vem crescendo significativamente no Brasil, sendo que nos últimos anos apresentou um aumento de aproximadamente 13,5 %. Sua área de cultivo para a safra 2012/2013 foi estimada em 68,9 mil hectares, sendo os maiores produtores deste grão os estados de Goiás, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul.

Em alguns países os grãos de girassol são empregados diretamente para o consumo humano, torrados ou crus. No cenário brasileiro são amplamente utilizados na alimentação de pássaros e aves, além de serem utilizados como matéria-prima para produção de óleos vegetais e, também, como uma alternativa no mercado de biocombustíveis (PORTO et al., 2007; AGUIAR, 2001; CONAB, 2014).

O girassol se apresenta como uma alternativa econômica na sucessão de outros grãos oleaginosos principalmente por ser mais resistente, uma vez que apresenta alta adaptabilidade às diferentes condições climáticas, seu rendimento é pouco influenciado pela latitude e altitude, e se destaca pela excelente qualidade de seu óleo. Sua composição se apresenta com alto valor nutracêutico, sendo constituído aproximadamente por 20 a 35 % de proteínas e até 55 % de lipídeos (GROMPONE, 2005). Sua fração em triacilgliceróis é responsável por apresentar de 85 a 91 % de ácidos graxos insaturados como o oléico, linolênico e linoléico, sendo este último capaz de diminuir o excesso de

colesterol no organismo (EMBRAPA, 1991; BREVEDAN et al., 2000; CARELLI et al., 2002; HAMED et al., 2012).

A cultura do girassol se destina principalmente ao mercado de óleos e margarinas, tendo esse cenário 80 % de sua demanda, pois se trata de um óleo de cor clara, aspecto límpido, sabor suave e baixo ponto de fusão (HAMED et al., 2012).

Existem vários processos de extração para óleos vegetais sendo que a escolha do processo mais adequado depende da matriz oleaginosa e do teor de lipídeos contido no material. Estas características determinam se a obtenção do óleo será realizada por prensagem, com a utilização de um solvente, ou ainda pela combinação destes métodos. Independentemente do tipo de processo, todos objetivam a obtenção de óleo e material desengordurado de boa qualidade, além de objetivarem a lucratividade (RODRIGUES, 2011).

Para a obtenção do óleo, a semente de girassol é primeiramente prensada e a massa resultante do processo de prensagem é contactada com solventes, como no caso das sementes de linhaça, algodão e canola (CORREIA, 2009). A massa resultante da prensagem das sementes de girassol pode apresentar teores de lipídeos que variam de 19 % à aproximadamente 24 % segundo Chung et al. (2009) e Berwanger (2013), o que torna viável o emprego de solventes para a extração do óleo residual (CORREIA, 2009).

Segundo Weisz et al. (2009), Leung et al. (1981) e Mohammad et al. (1974), o material sólido resultante da extração do óleo de girassol por prensagem é rico em compostos fenólicos apresentando de 1-4 % da massa total de ácidos clorogênicos. Os altos teores de compostos fenólicos podem afetar de forma significativa a qualidade da proteína e do farelo de girassol, oxidando-o e conferindo a este uma coloração verde escura, reduzindo sua digestibilidade e alterando de forma significativa suas propriedades funcionais.

Porém, quando estes mesmos compostos fenólicos são encontrados em óleos ou extratos, sua presença se torna atrativa. Diversos estudos relatam a presença de ácidos clorogênicos associada à atividade antioxidante, tanto *in vivo* como *in vitro*, estabilidade oxidativa, redução da incidência de Diabetes Mellitus tipo 2 e a prevenção de doenças cardiovasculares (GARAMBONE e ROSA, 2007).

O solvente ideal para extração de óleos vegetais deve apresentar requisitos básicos como: não apresentar toxicidade, não ser inflamável e explosivo, ser de fácil recuperação, não deixar odores no óleo e farelo e apresentar custo acessível (RODRIGUES, 2011; JOHNSON e LUSAS, 1983).

Durante décadas e ainda nos dias atuais, o solvente mais utilizado para a extração de óleos é o hexano, composto por uma mistura de compostos saturados de carbono, sendo seu componente predominante o n-hexano. A prática industrial levou à adoção do hexano como solvente de extração por este atender alguns requisitos, como ser totalmente apolar e dissolver prontamente o óleo, ter baixo calor de vaporização e não atacar as tubulações e os equipamentos com os quais tem contato. Entretanto, apresenta desvantagens em termos de segurança, uma vez que o n-hexano puro tem sido apontado como responsável por danos ao sistema nervoso periférico, tronco cerebral e medula espinhal, além de apresentar riscos à segurança operacional por sua inflamabilidade (WAKELYN e WAN, 2006; JOHNSON e LUSAS, 1983).

Dentre os solventes alternativos que são sugeridos para substituir o hexano destacam-se os álcoois de cadeia curta, tais como etanol e isopropanol, os quais são conhecidos por serem operacionalmente seguros, pois possuem menor grau de inflamabilidade que o hexano. Estes álcoois podem ser obtidos via processos fermentativos de fontes renováveis e são conhecidos por resultarem em óleo de boa qualidade (RODRIGUES, 2011; REGITANO-D'ARCE, 1985; JOHNSON e LUSAS, 1983).

Estudos utilizando solventes alternativos, dentre eles etanol e isopropanol são relativamente antigos e escassos. Em estudo extenso avaliando a aplicação de etanol para a extração de óleo de girassol, Regitano-d'Arce (1985, 1991) empregou o solvente em grau absoluto e hidratado para a extração lipídica da matéria sólida (torta de sementes de girassol e grãos de girassol). A autora também avaliou qual dos solventes empregados possibilitou maior transferência de ácidos clorogênicos para o óleo extraído. Os resultados obtidos permitiram inferir que a presença de água no solvente é o fator determinante para a alta eficiência na extração de ácidos clorogênicos, entretanto, o etanol absoluto foi o solvente que apresentou melhor rendimento do óleo como possível substituto ao hexano.

A extração com solventes alternativos também foi empregada por Sineiro et al. (1998). Os autores utilizaram etanol 96 % (vol / vol) para a extração do óleo de girassol a partir de torta de sementes utilizando extração com fluxo pulsado e extração com fluxo contínuo. A extração por pulsação possibilitou um aumento de 8,7 % no rendimento de extração de óleo, comparada com a extração não pulsada, totalizando um rendimento de 50,3 %, ao passo que a extração não pulsada possibilitou apenas um rendimento de 41,6 % do óleo.

Sineiro et al. (1996) avaliaram a extração de polifenóis presentes na torta de sementes de girassol com etanol 96 % (vol / vol) utilizando extrator pulsado de imersão e extrator convencional de imersão. Os autores observaram que não houve diferença no teor de polifenóis residual na torta de girassol quando utilizado o extrator convencional de imersão em tempos curtos. Entretanto, após 10 horas de extração em extrator pulsado de imersão, a concentração de polifenóis na miscela foi maior.

Chien et al. (2002) utilizaram etanol em diferentes concentrações (85 a 100 %) como solventes para a extração de óleo de milho nas temperaturas de 25, 50 e 68 °C. Os autores afirmam que a concentração do solvente é um fator importante, pois o emprego do etanol absoluto possibilitou maior rendimento de extração de óleo de milho. Os resultados também mostram que o rendimento do processo aumenta com a elevação da temperatura de extração.

Zhang et al. (2002) utilizaram isopropanol como solvente, nas concentrações de 88, 93, 95 e 97 % em água, para a extração do óleo de algodão à partir do material laminado e em flocos, utilizando extrator em contracorrente, empregando 7 estágios. Os autores inferem que o emprego do isopropanol possibilitou melhor extração no material expandido quando comparado ao algodão laminado, resultando em teores de óleo residual de 1,6 e 4,5 %, respectivamente. Os autores inferem também que o processo de extração utilizando o isopropanol hidratado ocorre mais lentamente e que o rendimento de extração também se apresentou menor quando comparado ao hexano.

O emprego de solventes alcoólicos além de possibilitar a extração de óleos vegetais de boa qualidade também possibilita a extração de compostos

fenólicos, no caso do óleo de girassol a extração de ácidos clorogênicos, como já demonstrada por diversos autores.

Segundo Sineiro et al. (1996, 1998), vários métodos têm sido descritos para extrair polifenóis de forma eficiente da torta de sementes de girassol, para produção de produtos livres desses fatores antinutricionais. Os autores inferem que o etanol é um bom solvente para a extração de polifenóis e ácidos clorogênicos em temperaturas moderadas, além de ser um solvente alternativo ao hexano para a obtenção de óleo.

Domínguez et al. (1993) estudaram a extração de ácidos clorogênicos no farelo desengordurado de girassol utilizando solução de etanol e água 50 % como solvente, proporção de 1:80 (farelo: solvente), temperatura ambiente por 30 minutos e duas extrações sequenciais. Os resultados demonstraram que o etanol hidratado pode apresentar uma remoção dos ácidos clorogênicos de 88 %, comparado com o teor inicial presente no farelo.

De acordo com os comentários supracitados, a presente dissertação de mestrado objetivou avaliar a viabilidade técnica da utilização de álcoois, etanol e isopropanol como solventes alternativos ao hexano, para obtenção do óleo de girassol a partir da massa resultante da prensagem de sementes de girassol. O estudo também objetivou avaliar a composição do óleo obtido em termos de ácidos graxos e compostos minoritários, avaliar a estabilidade oxidativa do óleo bruto obtido e determinar o teor residual de ácidos clorogênicos no farelo desengordurado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Matéria-prima girassol

O girassol (*Helianthus annus L.*) pertencente à família *Asteraceae*, apresenta-se como um fruto aquênio (Figura 1) de forma oblonga, geralmente achatada, composto por mesocarpo, endocarpo (amêndoas e sementes) e pericarpo (parede do fruto) podendo variar de tamanho e cores de acordo com o plantio. É cultivado em diversos países do mundo e representa uma importante fonte de óleo e proteína vegetal (MARZINEK et al., 2008; GONÇALVES, 2012; CORREIA, 2009).

Figura 1. Morfologia do aquênio de girassol

Fonte: CORREIA (2009).

O gênero *Helianthus* compreende 68 espécies conhecidas as quais são divididas em dois grandes grupos: as espécies sul-americanas, e as espécies norte-americanas de girassóis que podem ser encontradas nos Estados Unidos, Canadá e México (GROMPONE, 2004).

A palavra girassol deriva do grego *helios*, que significa sol e de *anthus* que significa flor, ou seja, é a “flor do sol”. O girassol é resistente a variações de temperatura, sendo que nas primeiras fases de desenvolvimento (0 a 40 dias) pode resistir às baixas temperaturas e à seca, porém sua faixa de melhor desenvolvimento está entre 18 e 24 °C. Seu plantio requer solos férteis, profundos e de preferência com boa drenagem, entretanto, seu cultivo pode se

desenvolver em solos menos férteis e com carência de vitaminas. Sua cultura pode ser iniciada de preferência no início das chuvas (entre o inverno e primavera), ou aproveitando o final das chuvas (entre verão e outono) pelas suas condições hídricas de crescimento (EMBRAPA, 2014; LEITE et al., 2007).

Grunvald et al. (2009) e Castro et al. (1997) recomendam que a colheita do girassol deve ser iniciada quando a umidade do grão estiver entre 14 e 16 %. Em geral, esse processo ocorrerá por volta de 100 dias, dependendo das condições climáticas da região. Nessa fase, as folhas estarão secas e o caule com coloração marrom-escuro. A colheita pode ser manual, em pequenas áreas, ou mecânica. Na manual, cortam-se os capítulos com facão ou tesoura de poda, na altura de sua inserção na haste.

No Brasil, o cultivo de girassol se iniciou na época da colonização da região pelos colonos europeus que consumiam suas sementes torradas e produziam um chá rico em compostos fenólicos, o qual substitua o café no desjejum matinal. Em 1902, a Secretaria da Agricultura de São Paulo distribuiu suas primeiras sementes de girassol aos agricultores e, a partir de então, ficou datado o primeiro cultivo comercial para a região Sudeste do país (CAMPOS LEITE et al., 2005).

Algumas características da planta de girassol como altura, tamanho do capítulo e aquênio, entre outras, variam de acordo com o genótipo da planta, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Amplitude e variação de características da planta de girassol

Característica	Amplitude de variação
Altura (cm)	50-400
Diâmetro do caule (mm)	15-90
Diâmetro do capítulo (cm)	6-50
Óleo no aquênio (%)	10-60
Óleo na amêndoa (%)	26-72

Adaptado de Correia (2009).

A semente de girassol também sofre modificações conforme seu cultivo, apresentando tamanho aproximado de 10 a 15 mm de comprimento e entre 4 e 12 mm de largura. A posição das sementes distribuídas ao longo da cabeça da planta influencia a composição em lipídeos, por exemplo, sementes internas

contêm menor quantidade de óleo do que as localizadas em zonas externas ou intermediárias. A cor da semente pode variar completamente entre branco e preto, com ou sem listras, conforme as condições de crescimento do ambiente, como mostrado na Figura 2 (GROMPONE, 2004).

Figura 2. Diferenças entre sementes de girassol conforme o ambiente de crescimento.

Fonte: Saudável Alimentação (2014).
a) sementes não oleosas; b) sementes oleosas

As composições centesimal e mineral das sementes também variam significativamente de acordo com o local, clima e fertilizantes utilizados para o seu cultivo, conforme mostrado nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Composição centesimal média de sementes oleosas de girassol

Componente	Teor percentual médio (%)
Água	4,8
Proteína	24,0
Óleo	47,3
Carboidratos totais	19,9
Resíduo Mineral	4,0

Adaptado de Campos-Leite et al.(2005).

Tabela 3. Composição mineral média (mg/100g) de sementes de girassol

Mineral	Teor em mg/100g
Cálcio	120,0
Fósforo	837,0
Ferro	7,1
Sódio	30,0
Potássio	920,0

Adaptado de Campos-Leite et al. (2005).

Em relação a produção nacional de girassol, a previsão para a safra 2013/2014 foi de 207,8 mil toneladas, ou seja, 88,9 % superiores a safra passada. Quanto à produção mundial de grãos de girassol, para a safra 2013/14 esta foi da ordem de 43,8 milhões de toneladas, com um aumento de 20,2 %, se comparada com a safra passada. Os maiores produtores de grãos são a Ucrânia e a Rússia (Tabela 4), com 10,5 milhões de toneladas e 8,9 milhões de toneladas, respectivamente (CONAB, 2014).

Tabela 4. Principais países produtores de girassol do ano de 2011 a 2014

País/Ano	Grão			Farelo			Óleo		
	11/12	12/13	13/14	11/12	12/13	13/14	11/12	12/13	13/14
Argentina	3.340	3.200	3.400	1.621	1.440	1.470	1.565	1.350	1.380
Rússia	9.627	7.959	8.900	3.199	2.789	2.945	3.552	3.097	3.269
Turquia	925	1.075	1.400	640	660	775	718	739	868
Ucrânia	10.500	9.000	10.500	4.361	3.820	4.228	4.347	3.794	4.199
EU-27	8.371	6.885	7.750	3.779	3.530	3.709	2.918	2.725	2.863
Outros	7.876	8.241	8.343	2.515	2.694	2.742	2.239	2.355	2.405
Total	40.639	36.360	40.293	16.115	14.933	15.869	15.339	14.060	14.984

Adaptado de CONAB (2014).

A variedade da espécie do girassol desencadeia a utilização de suas sementes: as oleosas e não-oleosas. As sementes não-oleosas (Figura 2.a) representam 5 % dos genótipos de girassol e são consideravelmente menores, pretas e apresentam o pericarpo (casca) que constitui de 40-45 % do peso total da semente, sendo muito utilizadas para a alimentação de pássaros. Já as sementes oleosas (Figura 2.b) são maiores, com o pericarpo de difícil remoção e apresentam de 30-47 % de óleo. Economicamente, as sementes oleosas se

destacam, pois a partir delas é possível a produção de óleo de girassol e seus derivados tais como o farelo (LEITE et al., 2007; REGITANO-D'ARCE, 1985).

2.2 Processos para obtenção de óleos vegetais: Extração com solventes

Para a obtenção de óleos vegetais, as características e peculiaridades da matéria-prima determinarão qual processo deverá ser empregado, sendo possível utilizar a extração por prensagem, extração utilizando solventes ou uma combinação destes métodos. Entretanto, independente do método utilizado, o objetivo é a obtenção de óleo de boa qualidade e isento de impurezas (WAKELYN e WAN, 2006; CAPELLINI, 2013).

O processo de extração por prensagem é considerado um dos mais antigos métodos de extração de óleos, pois consiste na aplicação de força (pressão) sobre uma matéria sólida, sendo que esta prática iniciou-se em meados da Primeira Guerra Mundial e deu origem às modernas prensas hidráulicas dos dias atuais. A teoria da prensagem considera o fluxo de um fluido newtoniano dentro de um extrusor sofrendo ação contínua da pressão ao longo do comprimento da prensa, e é considerado um processo vantajoso quando a matéria-prima apresenta mais que 25 % de óleo (OETTERER, REGITANO-D'ARCE, SPOTO, 2006).

Já a extração por solvente foi adotada como opção mais eficiente à prensagem para a extração de óleo de grãos oleaginosos, sobretudo, aqueles que não apresentam elevados teores de óleo, 15 a 20 %, segundo Wakelyn e Wan (2006). A extração com solventes apresenta como principal vantagem, quando comparada à extração por prensagem, maior rendimento de óleo e, consequentemente, a obtenção de farelo completamente desengordurado.

Geralmente, os procedimentos para a extração de óleos vegetais são os mesmos para todas as sementes oleaginosas. Na Figura 3, por meio de diagrama de blocos, estão representados os procedimentos efetuados para a obtenção da semente de girassol pré-tratada para a extração do óleo, e na Figura 4 os procedimentos para a obtenção do óleo de girassol bruto.

Figura 3. Semente pré-tratada para extração de óleo

Fonte: Grompone, 2005.

Figura 4. Produção de óleo bruto de girassol

Fonte: Grompone, 2005.

A extração por solvente pode ser definida como um processo de transferência de massa onde o propósito é a separação de um ou mais componentes, como no caso de óleos vegetais, onde o óleo bruto é separado das proteínas e carboidratos que compõem a matriz sólida. De modo sucinto, a

extração por solvente compreende os processos de lavagem, difusão e osmose, sendo que neste processo as duas fases, líquida e sólida se enriquecem e se empobrecem continuamente no componente de interesse (RODRIGUES, 2011; CAPELLINI, 2013).

O processo de extração objetiva a maior redução do teor de óleo da matéria sólida oleaginosa utilizando o mínimo de solvente. Geralmente o material oleaginoso entra no sistema de extração com aproximadamente 15 a 20 % de óleo, e o processo é considerado eficiente se a fase refinado (farelo desengordurado) deixar o extrator com um teor de óleo menor que 1,0 % (SAWADA, 2012).

Segundo Jonhson e Lusas (1983) e Capellini (2013), os solventes variam consideravelmente em termos de suas propriedades físicas e químicas, o que afeta seu desempenho na extração do óleo. Para a escolha do solvente, geralmente se considera a seletividade deste aos triacilgliceróis. Outro fator importante é a capacidade de extração de outras classes de lipídeos tais como fosfolipídeos, ceras e ácidos graxos livres facilitando, assim, o processo posterior de refino do óleo.

Alguns solventes, devido a sua toxicidade, apresentam uso restrito para a indústria alimentícia. O solvente mais utilizado na extração de óleos vegetais é a hexana, uma mistura de compostos saturados de carbono de cadeia alifática, com o n-hexano como o composto majoritário (WAKELYN e WAN, 2006).

A hexana apresenta a vantagem de não ser corrosiva e de possibilitar a obtenção de um farelo com baixo teor de óleo residual, entretanto, este solvente não é obtido de fontes renováveis e apresenta alta toxicidade, uma vez que o n-hexano puro pode provocar danos ao sistema nervoso periférico de ratos e de humanos quando inalado durante vários meses, além de ser um perigoso agente poluidor do ar (CAPELLINI, 2013; JOHNSON e LUSAS, 1983).

Por apresentar risco potencial à saúde e ao ambiente, pesquisas têm sido realizadas a fim de encontrar solventes alternativos que apresentem as propriedades desejáveis para a extração de óleos vegetais. Tais propriedades são (SAWADA, 2012; TIR et al., 2012; CAPELLINI, 2013):

- Alta solubilidade do óleo a elevada temperatura e baixa solubilidade a temperatura ambiente, tornando possível a separação das fases oleosa e solvente;
- Alta seletividade a triacilgliceróis, fosfolípidos, ceras e ácidos graxos livres;
- Baixa inflamabilidade e toxicidade;
- Grande disponibilidade a baixo preço;
- Possibilitar a extração de óleos de boa qualidade;
- Ser proveniente de fontes renováveis;
- Ser inerte quimicamente evitando reações paralelas que possam afetar a integridade dos equipamentos;
- Ser facilmente removido do farelo e do óleo, com baixa demanda energética.

Vários substitutos do hexano já são citados na literatura para a extração de óleos vegetais de diferentes matérias-primas oleaginosas, dentre eles: água com ou sem adição de enzimas, cetonas (acetona e butanona), fluídos supercríticos (dióxido de carbono), álcoois (etanol e isopropanol), entre outros (SAWADA, 2012; JOHNSON e LUSAS, 1983).

Dentre a vasta lista de possíveis solventes que podem substituir a hexana, os álcoois de cadeia curta apresentam destaque.

Os álcoois de cadeia curta, como etanol e isopropanol, em temperatura ambiente apresentam como característica a miscibilidade parcial com os óleos vegetais enquanto o hexano apresenta miscibilidade total. Esta característica de miscibilidade parcial pode levar a uma diminuição da demanda energética na etapa de recuperação do solvente contido na fase extrato (CAPELLINI, 2013). Os solventes alcoólicos também são apontados como capazes de extrair maiores quantidades de fosfolípidos e material insaponificável, quando comparados ao hexano (TIR et al., 2012; JOHNSON e LUSAS, 1983).

O álcool etílico (etanol, C_2H_5OH) pode ser obtido através de uma grande variedade de matérias-primas e fontes fósseis, sendo sua maior demanda por fontes renováveis como cana-de-açúcar, beterraba açucareira, mandioca e batata doce. O emprego do etanol para a extração de oleaginosas no Brasil foi cogitado na década de 80, quando o país aumentou a produção deste tipo de

solvente para fins automobilísticos (REGITANO-D'ARCE, 1985; CAPELLINI, 2013).

Com relação ao isopropanol, também conhecido como álcool isopropílico (2-propanol, C_3H_8O), este pode ser produzido a partir do petróleo e, também, por rota renovável. Se comparado ao etanol, o isopropanol apresenta maior poder de solubilização de óleos vegetais. Pesquisas mostram que óleos vegetais obtidos de extração com isopropanol apresentam maior estabilidade a oxidação induzida pela temperatura quando comparados a óleos extraídos com hexano, provavelmente devido ao maior teor de antioxidantes extraídos (RODRIGUES, 2011; WAKELYN e WAN, 2006).

Quando os álcoois etanol e isopropanol são comparados com o hexano, podem ser notadas algumas diferenças significativas, conforme demonstrado na Tabela 5. O isopropanol requer cerca de duas vezes mais calor para evaporar, e é considerado mais seguro que o hexano em termos operacionais, pois apresenta ponto de inflamabilidade maior (BAKER e SULLIVAN, 1983).

Tabela 5. Características dos solventes hexano, etanol e isopropanol

	Hexano	Isopropanol	Etanol
Calor de vaporização (cal/g)	80	206	200
Ponto de inflamabilidade (°C)	-14	18	17,8

Adaptado de Baker e Sullivan (1983); CETESB (2014).

Sawada et al. (2014) utilizaram o etanol com diferentes graus de hidratação para a extração de óleo de soja nas temperaturas de 40 a 90 °C. Os resultados demonstraram que com o aumento da hidratação do solvente o rendimento do óleo diminuiu significativamente enquanto a extração de proteínas foi aumentada, entretanto, com o aumento da temperatura a extração dos lipídeos foi favorecida. Os autores observaram também que não são notadas diferenças estatisticamente significativas entre as composições em ácidos graxos dos óleos obtidos via etanol e via hexano.

Seth et al. (2007) estudaram o processo de extração de óleo de flocos de soja e soja moída utilizando isopropanol hidratado como solvente. O

emprego do isopropanol resultou na extração de 95,6 % de óleo dos flocos de soja e 79,1 % da soja moída.

No trabalho de Gandhi et al. (2003), óleo de soja foi obtido utilizando diferentes solventes tais como n-hexano, isopropanol e etanol, em grau absoluto e hidratado. Os resultados da extração de óleo, em diferentes intervalos de tempo podem ser observados pela Tabela 6. Neste estudo também foram avaliadas as características do óleo obtido, como pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 6. Extração do óleo de soja em diferentes condições

	Extração do óleo (%)				
	2h	4h	6h	8h	10h
n-Hexano absoluto	77,0	90,0	98,7	99,5	99,5
Isopropanol absoluto	73,0	94,0	98,0	99,5	99,5
Etanol absoluto	71,0	92,0	98,0	99,0	99,0
n-hexano + etanol*	52,0	65,0	82,0	96,0	99,0
Etanol + água**	54,0	65,0	81,0	95,0	99,0
Isopropanol + água***	56,0	68,0	85,0	94,0	99,8

*n-hexano+etanol = 79+21

**Etanol + água= 95,6+4,4

***Isopropanol + água=87,8+12,2 (valores em massa).

Adaptado de Gandhi et al. (2003).

Tabela 7. Características do óleo de soja obtido por diferentes solventes

	n-hexano	Isopropanol	Etanol
Fósforo (mg/kg)	413,0	5,0	4,0
Índice de peróxido (mg/kg)	2,0	2,3	2,1
Óleo neutro (%)	97,7	99,8	99,5

Adaptado de Gandhi et al. (2003).

As características apresentadas para o óleo de soja obtido em diferentes condições demonstraram que, independente do tipo de solvente utilizado para a extração, etanol e isopropanol, ambos apresentam qualidade similar quando comparados ao óleo obtido via hexano, exceto para o teor de fósforo do óleo bruto. Quando é avaliado o rendimento do óleo extraído, o comportamento do isopropanol se assemelha ao do n-hexano quando o tempo de contato do solvente é maior que 6 horas. Além disso, vale ressaltar que o isopropanol é

considerado mais seguro e menos tóxico para a utilização se comparado ao hexano, de acordo com Gandhi et al. (2003).

Capellini (2013) utilizando os solventes etanol e isopropanol em grau absoluto e hidratado avaliou o efeito da temperatura na extração de óleo de farelo de arroz. O estudo mostra que em relação ao rendimento do óleo, o isopropanol em grau absoluto apresentou melhor resultado se comparado ao etanol. Neste trabalho também pode-se notar que, com o aumento da temperatura, o rendimento de extração de óleo foi favorecido, e com a hidratação dos solventes, a extração dos lipídeos foi prejudicada.

Harris e Hayward (1950) utilizando isopropanol como solvente para a extração de óleo de algodão observaram que na temperatura de 70 °C, utilizando o solvente a 91 %, a quantidade de óleo restante no farelo desengordurado foi menor do que 1,0 %. Os autores observaram também que a utilização do isopropanol como solvente possibilitou uma maior extração do gossipol do material sólido, pois, utilizando o hexano, o teor de gossipol na fase refinado foi de 0,98 % enquanto a fase refinado obtida da extração com isopropanol apresentou 0,01 % de gossipol.

Sineiro et al. (1998) realizaram a extração do óleo de torta de sementes de girassol utilizando etanol a 96 % como solvente, em coluna de fluxos contínuo e pulsado. Quando comparados os resultados em termos de rendimento do óleo, a extração por fluxo pulsado se apresentou 8,7 % maior em comparação ao fluxo contínuo, com 95 minutos de contato. Em linhas gerais, o fluxo pulsado resultou em 50,3 % de óleo total, ao passo que o fluxo contínuo resultou em 41,6 %.

Estudos avaliando a aplicação do etanol para a extração do óleo de sementes de girassol também foram reportados por Regitano-d'Arce (1985). A autora utilizou aparelho projetado constituído de 8 vasos extratores e as concentrações etanólicas utilizadas foram de 90, 93, 96 e 99 % em volume. Dentre as condições utilizadas, o etanol a 99 %, apresentou grande capacidade de extração, similar ao solvente hexano, entretanto, pode-se observar que a remoção do ácido clorogênico só foi eficaz quando se empregou o solvente com maior grau de hidratação.

Regitano-d'Arce (1991) também avaliou a eficiência do etanol para a extração de óleo restante na torta de sementes de girassol e a retirada dos

ácidos clorogênicos dos farelos desengordurados. Para este estudo, a autora utilizou etanol em 99,6 % e uma solução hidroalcoólica com 90 % de etanol, ambos em volume, utilizando temperaturas de 72 °C e 74 °C, e contato de 60 minutos. Em linhas gerais, os resultados apresentados foram similares ao estudo anterior, sendo o solvente mais eficiente para a remoção de ácidos clorogênicos da torta e farelo o solvente hidratado com 90 % de etanol. Já para o rendimento do óleo, o etanol absoluto (99,6 % em volume) foi o mais eficiente para o esgotamento das matérias sólidas.

Estudo de Oliveira et al. (2013) apresenta a influência do tipo de solvente e do tempo de processo na extração de óleo de sementes de maracujá. Os autores avaliaram a extração do óleo utilizando os solventes acetona, etanol, isopropanol e hexano utilizando três diferentes técnicas, Soxhlet e extração convencional com agitação e assistida por ultrassom. A técnica utilizada que viabilizou maior rendimento do óleo foi o processo com Soxhlet e solvente hexano, e quando avaliado o solvente mais eficaz, o emprego da acetona com a agitação apresentou rendimento de 22 %, seguido por isopropanol com 20,4 %.

2.3. Óleo de girassol

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANGELINI et al., 2004), os óleos vegetais são materiais obtidos de espécies vegetais e são constituídos de acilgliceróis de ácidos graxos, pequenas proporções de fosfolípidios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres. Estes óleos podem ser consumidos como óleos para saladas ou no preparo de alimentos fritos e cozidos. Podem, também, ser adicionados em condimentos ou especiarias e/ou outro ingrediente para agregação de sabor e aroma.

A produção mundial de óleos vegetais vem aumentando gradativamente, e o seu consumo também, conforme mostrado na Figura 5, sendo o óleo de palma o mais consumido (35 %), seguido pelo óleo de soja (27 %), canola (15 %), girassol (9 %), óleo de palmíste (4 %), algodão, amendoim, coco e oliva que juntos somam 10 %.

Figura 5. Consumo Mundial de Óleos vegetais no mundo

Fonte: Soystats, 2014

A estimativa para a produção do óleo de girassol na safra 2013/14 foi de 14,9 milhões de toneladas, aumento de 6,6 %, quando comparada com a safra 2012/2013. A União Européia apresenta-se como o maior consumidor de óleo de girassol, com um consumo previsto em torno de 3,7 milhões de toneladas, aumento no consumo de 0,4 % em relação à safra 2012/13. A Rússia vem em segundo lugar com um consumo previsto em torno de 2,1 milhões de toneladas, aumento no consumo em torno de 2,4 %, em comparação à safra passada.

A procura por óleos vegetais que apresentem em sua composição altos teores de compostos nutracêuticos vem crescendo cada vez mais no Brasil, e a demanda de óleos de girassol, oliva e palma vêm ocupando o lugar do tradicional óleo de soja, por também apresentarem ácidos graxos poli-insaturados, vitamina E e fitosteróis (PEDREIRO, 2007).

Uma das principais características do óleo de girassol quando comparado com outros óleos vegetais é a facilidade do processamento da matéria prima. Como apresentado anteriormente, existem dois tipos de sementes de girassol: as oleosas e as não oleosas. As sementes oleosas, que contêm quantidade suficiente de lipídeos, são utilizadas para a extração do óleo, sendo este muito apreciado pela culinária devido ao seu aroma e sabor (LEITE et al., 2007; REGITANO-D'ARCE, 1985).

O óleo de girassol pode ser obtido artesanalmente e/ou industrialmente. Na prática industrial, as sementes são primeiramente prensadas e, em seguida, a torta é submetida ao contato com solvente, como pode ser observada na Figura 2.4. O produto obtido, o óleo bruto, é submetido a diferentes tratamentos que incluem a degomagem, a neutralização, o branqueamento e a desodorização (TURATTI e PORTAS, 2001; PEREZ et al., 2004).

Campos Leite et al. (2005) e Carelli et al. (1997) citam que o óleo obtido através da prensagem mecânica das sementes é considerado uma boa fonte de vitamina E e de polifenóis e que estes compostos, assim como outros compostos fenólicos, estão relacionados à estabilidade do óleo.

De maneira geral, os óleos e gorduras podem apresentar ácidos graxos com cadeias carbônicas de diferentes comprimentos e diferentes números de duplas ligações. Além disso, o fator genético e ambiental pode determinar as proporções dos ácidos graxos saturados e insaturados presentes nos óleos vegetais e as propriedades químicas e físicas, tais como: ponto de fusão, viscosidade, solubilidade e estabilidade térmica e oxidativa (PAPAS, 1996; CORREA, 2010).

O óleo bruto de girassol possui cor âmbar clara e apresenta fosfatídeos e material mucilaginoso. Robertson (1972) e Regitano-d'Arce (1985) caracterizam o óleo de girassol como de alta qualidade para o uso em alimentos cozidos e em saladas, o qual se tornou atrativo ao consumo humano por sua composição em ácidos graxos, principalmente em ácidos graxos essenciais.

Os ácidos graxos essenciais são aqueles que o organismo não é capaz de sintetizar por meio de vias metabólicas, sendo assim, se faz necessária a ingestão de alimentos que apresentem em sua composição tais ácidos, como é o caso dos óleos vegetais e dos alimentos marinhos. No óleo vegetal de girassol, um dos ácidos graxos essenciais presente em sua composição é o ácido linoléico, pertencente ao grupo ômega-6, conforme representado na Tabela 8.

Tabela 8. Perfil de ácidos graxos do óleo de girassol

Ácidos graxos	Teor percentual (g/100g)
Mirístico (C14:0)	0,1
Palmítico (C16:0)	5,8 – 6,6
Palmitoléico (C16:1)	0,1
Esteárico (C18:0)	3,8 – 5,2
Oléico (C18:1)	16,0 – 23,8
Linoléico (C18:2)	64,6 – 71,5
Linolênico (C18:3)	0,1 – 0,4
Araquídico (C20:0)	0,2 – 0,4
Ácidos graxos saturados	11,6
Ácidos graxos monoinsaturados	23,1
Ácidos graxos polinsaturados	65,3

Adaptado de Campos Leite et al. (2005).

Devido ao seu perfil de ácidos graxos, o óleo de girassol apresenta funções fisiológicas no organismo, podendo-se destacar a redução dos níveis de colesterol plasmático total e, também, da fração LDL-colesterol, consequentemente reduzindo os riscos de doenças cardiovasculares tais como infarto, aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC) e trombose (NORUM, 1992).

Além dos benefícios já citados, os ácidos graxos ômega-6 desencadeiam no organismo a produção de um conjunto de substâncias com atividade fisiológica, dentre elas as tromboxanas, prostaglandinas e leucotrienos. De modo geral, as tromboxanas desempenham vasoconstrição, aumento das taxas de coagulação e aumento da pressão arterial. As prostaglandinas possuem efeito anti-agregação plaquetária e diminuição da pressão arterial, sendo que o equilíbrio entre a produção de prostaglandinas e tromboxonas reduz o risco de aparecimento de doenças cardiovasculares (CAMPOS LEITE et al., 2005).

2.4. Farelo desengordurado e torta de sementes de girassol

O aproveitamento racional dos subprodutos do processo de extração do óleo de girassol assume um papel importante na economia agroindustrial devido ao grande volume disponível (EMBRAPA, 1991; TELLES, 2006).

Os subprodutos que possuem grande valor comercial são a torta, resultante da prensagem das sementes, a qual pode ser submetida à extração com solventes, e o farelo desengordurado, obtido da etapa de extração com solventes orgânicos, conforme já mostrado na Figura 4. O farelo desengordurado de girassol apresenta-se como fonte de proteínas de alta qualidade, sendo seu teor elevado comparado ao de outras oleaginosas, como soja, algodão e colza (OLIVEIRA et al., 2007).

A torta de girassol, obtida por prensagem a quente, tem gerado grande interesse para uso na alimentação animal, além de disponibilizar o óleo bruto, alternativa de combustível não-poluente e barato no processo de prensagem das sementes. A torta resultante da prensagem do grão de girassol é uma das mais ricas em elementos nutricionais, apresentando altos teores de proteínas, óleo residual e fibras, como pode ser observado na Tabela 9.

Tabela 9. Composição bromatológica da torta de girassol descorticada e não descorticada

Torta de Girassol	Nutrientes em % na matéria seca						
	Umidade	Lípídeos	PB	FDN	FDA	Lig	Cel
Não descorticada	8,1	15,5	22,9	38,3	29,3	—	—
Descorticada	—	31,4	28,1	25,3	25,3	8,7	8,9

(PB) Proteína bruta, (FDN) Fibra em detergente neutro, (FDA) Fibra em detergente ácido, (Lig) Lignina, (Cel) Celulose. Adaptado de OLIVEIRA et al. (2007).

O farelo desengordurado possui um potencial nutricional considerável, principalmente devido à ausência de fatores tóxicos, além de ser uma fonte rica em cálcio e fósforo. Embora apresente todos esses conceitos nutracêuticos para formulação de alimentos, o farelo de girassol é utilizado quase que exclusivamente como ração para animais, pois durante o processo de prensagem, com o emprego de altas temperaturas, ocorre a desnaturação das

proteínas. Além disso, a presença de ácidos clorogênicos confere coloração indesejável ao subproduto (Tabela 10) (UNGARO, 2000; TELLES, 2006).

Tabela 10. Composição do farelo de girassol obtido por extração com solvente

Componentes (%) matéria seca	Farelo 1	Farelo 2	Farelo 3
Proteínas	25,0	29,4	31,5
Celulose	18,3	24,2	25,1
Hemicelulose	10,9	15,4	12,5
Lipídeos	1,5	1,3	3,2
Ácidos clorogênicos	2,7	2,9	-
Ácidos fenólicos	4,5	4,9	-
Componentes solúveis em água	24,9	22,4	21,2
Cinzas	7,2	7,0	7,1

Adaptado de GENEAU-SBARTAI et al. (2008).

O farelo de girassol possui um elevado teor de proteínas que pode variar de 40-50 % e não apresenta componentes antinutricionais, tais como inibidores de protease. A composição de aminoácidos de suas proteínas se encontra em conformidade com o padrão estabelecido pela Food and Agriculture Organization (FAO), e seus principais constituintes são albuminas e globulinas (70 - 85 %), o que caracteriza a proteína do farelo de girassol como um ingrediente alimentar de alto valor (GONZÁLEZ-PÉREZ, et al., 2002).

A variedade genética do girassol, o tipo de solo e clima, e até mesmo a posição do grão no capítulo da flor estão associadas também à ampla variabilidade da composição do farelo. Segundo Karunajeewa et al. (1989), grande variação química também pode ser observada neste quesito quando ocorrem mudanças no método de extração e processamento do óleo. Entretanto, estudos realizados por Tavernari et al. (2008) comparando a composição bromatológica da torta de girassol, proveniente da prensagem de sementes, e do farelo de girassol obtido utilizando solvente (Tabela 11), não mostraram diferenças significativas.

Tabela 11. Composições bromatológicas de torta e farelo de girassol

Composição (%)	Tipo de processamento	
	Prensagem	Solvente
Umidade	7,00	7,00
Proteína bruta	41,00	46,8
Fibra bruta	13,00	11,00
Lipídeos	7,60	2,90
Matéria Mineral	6,80	7,70
Cálcio	0,43	0,43
Fósforo	1,08	1,08
Magnésio	1,00	1,00
Potássio	1,08	1,08

Adaptado de Tavernari et al. (2008).

Como citado anteriormente, no farelo de girassol há presença de alguns compostos fenólicos, como os ácidos clorogênicos, que interagem com as proteínas e reduzem sua digestibilidade e funcionalidade. Muitas metodologias vêm sendo estudadas para o isolamento das proteínas do farelo de girassol e para a remoção dos compostos fenólicos. Vários autores citam que misturas de solventes orgânicos e água apresentam-se como melhor combinação para a extração destes compostos, porém estas misturas podem ocasionar a desnaturação das proteínas, diminuindo assim sua solubilidade (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2002; MIKOLAJCZAK et al., 1970; VENKTESH e PRAKASH, 1993).

Diversos estudos vêm sendo realizados para a utilização do farelo de girassol na alimentação de animais e a utilização da proteína do farelo como fonte proteica na dieta. Garcia et al. (2004) estudaram os efeitos da inclusão de concentrados proteicos de farelo de girassol na dieta de vacas holandesas em fase de crescimento. Os autores observaram que não houve diferença na inclusão do farelo de girassol sobre a digestibilidade aparente das vacas, podendo concluir que a adição do concentrado proteico do farelo de girassol pode ser utilizada com eficiência na dieta de bovinos em fase de crescimento.

Lima et al. (2013) realizaram estudo sobre a substituição do farelo de soja pelo farelo de girassol na alimentação de aves em fase de crescimento e constataram que o aumento do percentual de substituição da proteína bruta do farelo de soja pelo farelo de girassol não ocasionou efeito sobre o consumo das

aves. O ganho de peso diminuiu linearmente e os valores de conversão animal elevaram-se sendo assim, segundo os autores, a proteína do farelo de soja pode ser substituída pela proteína do farelo de girassol até 15 %, sem que haja comprometimento do crescimento das aves.

Estudos visando à remoção dos compostos fenólicos do farelo de girassol também vêm sendo realizados. Sripad e Narasinga Rao (1987) avaliaram o comportamento de compostos fenólicos presentes em farelos de girassol quando os mesmos foram tratados por diferentes solventes. Os autores sugerem a utilização de acetona, etanol e metanol a 40 % aquoso para a extração dos compostos fenólicos. Foi observado que a extração sequencial em quatro estágios favoreceu a remoção de polifenóis com eficiência de 95-97 %, considerando que o tratamento só a base de água foi de 83 %. Os autores observaram, também, que a extração com água e solventes orgânicos aumenta o teor de proteínas e diminui o teor de açúcares totais no farelo desengordurado.

2.5. Ácidos clorogênicos

Os ácidos clorogênicos (ACG) são compostos por ésteres formados pela esterificação de um ou mais derivados do ácido trans-cinâmico com o ácido quínico. Esta família de compostos ocorre geralmente de forma natural em plantas tais como no café e no girassol (ESCAMILLA – TREVINÑO et al., 2014; REGITANO-D'ARCE, 1985).

Figura 6. Estrutura molecular dos ácidos clorogênicos

Fonte: Sigma – Aldrich, 2015

A semente de girassol apresenta quantidades de ACG, ácido caféico e isômeros do ácido di-cafeoil-quínico que estão concentrados em suas sementes, sendo sua principal localização a aleurona (Figura 1), local este em que as proteínas das células se encontram, segundo estudos histológicos realizados por Burns, Talley e Brummett (1972).

Segundo Smith e Johnsen (1948), a presença do ácido clorogênico foi descoberta no farelo de girassol quando hidróxido de sódio foi adicionado a este e a cor ocre foi visualizada. Entretanto, a cor ocre não permaneceu por muito tempo no farelo, devido à oxidação com o ar ou pela própria oxidação química, mudando sua cor para verde. Quando estudada a velocidade deste processo de oxidação, verificou-se que em pH em torno de 9, a mudança de cor se dava entre 8 a 10 minutos, e em pH 11,5 ou maior, a coloração já se apresentava em tons de marrons, porém quando adicionava-se um agente redutor, o aparecimento da cor não ocorria (REGITANO-D'ARCE, 1985).

Como citado anteriormente, a presença de ácidos clorogênicos no farelo de girassol é negativa, uma vez que a polifenoloxidase oxida o ACG e as substâncias resultantes desta reação reagem com as proteínas presentes no farelo, diminuindo sua digestibilidade e qualidade nutricional. Sendo assim, a retirada destes compostos do farelo se torna importante para a obtenção de proteína de boa qualidade (PEDROSA et al., 2000; KARAMEÉ et al., 2012).

De acordo com estudos de Smith e Johnsen (1948), a utilização do etanol hidratado no tratamento de sementes de girassol possibilitou a redução do teor de ácidos clorogênicos presentes no extrato proteico produzido a partir da semente. Os autores também indicam que a hidratação do solvente é um fator determinante para a extração dos ácidos clorogênicos, uma vez que tratando o farelo com etanol 70 % foi possível a eliminação dos compostos fenólicos.

Estudos realizados por Regitano-d'Arce (1991) confirmam que a hidratação do solvente é um fator importante para a extração de compostos fenólicos. A autora avaliou a extração do óleo da torta de girassol e a retirada dos ácidos clorogênicos utilizando etanol absoluto e hidratado. O etanol hidratado com 10 % de água mostrou maior capacidade de extração, deixando apenas valores inferiores ao 0,05 % de ácido clorogênico residual no farelo, enquanto o valor residual extraído com etanol absoluto foi de 1,60 %.

Rosa et al. (2011) avaliaram a eficiência de remoção de ácidos clorogênicos de farelo de girassol desengordurado com éter de petróleo utilizando metanol e etanol absoluto, nas temperaturas de 25, 40 e 60 °C na proporção farelo:solvente de 1:20. Os autores observaram que a extração dos ácidos clorogênicos foi mais eficiente quando foi utilizado metanol (40,9 % de extração, 60 °C/ contato de 60 minutos), comparado ao etanol nas mesmas condições (25,2 % de remoção).

A eficiência da remoção de ácidos clorogênicos presentes na torta de sementes descorticadas de girassol também foi estudada por Rossi et al. (1980). O objetivo do trabalho foi a produção do farelo proteico de girassol com uma baixa concentração de ácidos clorogênicos, utilizando várias misturas de solventes, sendo eles: etanol-heptano (48:52), etanol-água (95:5), etanol-acetona (50:50), acetona-hexano (59:41), etanol-hexano (21:79), etanol-hexano (50:50) e etanol-hexano (75:25), em volume. As extrações foram realizadas monitorando a temperatura as quais variaram de 50 a 77 °C, por aproximadamente 30 minutos, na razão sólido:solvente de 1:5, massa:volume. De acordo com os resultados, os autores inferem que a mistura etanol-heptano (48:52), etanol-água (95:5) e etanol-acetona (50:50) foram as que apresentaram maior extração do composto de interesse presente na matéria inicial, extraíndo 27, 27 e 23 % do conteúdo inicial, respectivamente.

Neste mesmo estudo, Rossi et al. (1980), utilizaram também o solvente isopropanol para avaliar a remoção dos ácidos clorogênicos presentes nas sementes de girassol. Para os ensaios utilizando isopropanol, a extração foi realizada em temperatura ambiente, com uma razão sólido:solvente de 1 : 200 (massa : volume), e a hidratação do solvente variou de 0 a 50 % de água. Os autores sugerem que a quantidade de água presente no solvente é fator fundamental para a extração dos ácidos clorogênicos, sendo que os solventes com níveis de hidratação de 30, 40 e 50 % de água, extraíram respectivamente 80, 81 e 83 % do composto fenólico.

A extração de ácidos clorogênicos e ácido cafeíco do farelo de sementes de girassol obtido de extração com hexano, também foi avaliada em estudo realizado por González-Perez et al. (2002). Os autores empregaram metanol 80 %, isopropanol 70 % e etanol 95 % como solventes na proporção

farelo:solvente de 1:20, e os resultados de remoção dos ácidos clorogênicos foram 100, 88 e 24 %, respectivamente.

Sineiro et al. (1996) com o objetivo de extrair polifenóis da torta de sementes de girassol utilizaram extratores de fluxo contínuo e pulsado empregando etanol 96 % como solvente. A concentração de polifenóis foi expressa como ácidos clorogênicos sendo que os autores não observaram diferenças significativas no conteúdo de polifenóis provenientes da torta de girassol em tempos curtos de extração, entretanto, quando o processo ultrapassou 10 horas de extração, a miscela proveniente de fluxo pulsado, apresentou maior concentração dos compostos de interesse.

Sen e Bhattacharyya (2000) investigaram o efeito nutricional, na alimentação de ratos, da fração proteica da semente de girassol obtida do processo de extração com isopropanol. As sementes de girassol foram descascadas e submetidas a extração com isopropanol, a 50 °C por 4 horas, resultando no material desengordurado com fração proteica aproximada de 72 % e com baixo conteúdo residual de ácidos clorogênicos (0,07 %) e fibras (3,3 %). O mesmo procedimento de extração foi realizado utilizando hexano como solvente em aparelho tipo Soxhlet. Os animais foram divididos em grupos e receberam uma das três dietas experimentais, sendo o grupo controle alimentado com caseína, grupo I com farelo de girassol proveniente da extração com isopropanol e grupo II com farelo de girassol proveniente da extração com hexano. Os perfis lipídicos do sangue (colesterol e triglicérides) e do tecido foram comparados conforme a dieta, e os resultados sugerem que o farelo proveniente da extração com isopropanol é melhor em termos nutricionais do que o proveniente da extração com hexano, sendo este último equivalente à caseína.

Embora os estudos anteriores tenham mostrado a importância da eliminação dos ácidos clorogênicos do farelo de girassol para viabilizar a utilização da fração proteica, é importante mencionar a atividade antioxidante destes ácidos.

Estudos citam que dietas ricas em antioxidantes tais como tocoferóis e polifenóis têm sido associadas ao baixo risco de desenvolvimento de inúmeras doenças, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer. No organismo, a ação destes

antioxidantes se encontra presente na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e na síntese de elementos biológicos para a ativação de neutrófilos do sistema imunológico a fim de destruir determinado patógeno (BERNAUD e FUNCHAL, 2011).

Os ácidos clorogênicos, assim como outros compostos com características antioxidantes, têm sido descritos na literatura como eficientes na eliminação de radicais livres e no desempenho de efeitos antagônicos à peroxidação lipídica. A ação antioxidante do ácido clorogênico é devida à presença de um grupo orto-di-hidroxila no anel aromático, que atua como aceptor de radicais livres tornando sua presença atrativa, contribuindo para a estabilidade oxidativa de extratos (KARTHIKESAN et al., 2010; KARAMEÉ et al., 2012; PEDROSA et al., 2000).

Salgado et al. (2012) avaliaram o potencial de ativação de filmes confeccionados com proteínas de girassol e compostos fenólicos da semente de girassol (majoritariamente ácidos clorogênicos e cafeíco) quanto a suas propriedades antioxidantes. Foram utilizados os ensaios de ABTS (Capacidade de eliminação de radicais catiônicos), FRAP (Capacidade de redução do íon férrico), PCL (Capacidade de eliminação de radicais ânion superóxidos) e propriedades antibacterianas (por testes de difusão em gel) para a avaliação das propriedades antioxidantes. Os autores observaram que os compostos fenólicos apresentaram importante fator antioxidante, entretanto, não conferem características antibacterianas.

Estudos de Karamaé et al. (2012) demonstraram que o extrato metanólico bruto de sementes não-oleosas de girassol, apresentou compostos fenólicos, como isômeros de ácidos clorogênicos, ácidos cafeoilquínico, entre outros. Foi realizada a determinação da atividade antioxidante através de ensaios como ABTS, DPPH e os resultados obtidos foram coerentes entre as frações dos compostos fenólicos identificados, ou seja, quanto maior a concentração encontrada de ácidos clorogênicos e cafeoilquínicos, mais predominante a atividade antioxidante.

As propriedades antioxidantes dos ácidos cafeico e clorogênicos também foram avaliadas por Marinova et al. (2009) durante o processo de auto oxidação dos triacilgliceróis de óleo de girassol, quando submetidos a temperatura de 100 °C. Ambos os tipos de ácidos foram comparados dentro da

mesma faixa de concentração partindo de $2,8 - 56,5 \times 10^{-4}$ M (50 – 2000 mg/kg). Verificou-se que na concentração $2,8 \times 10^{-4}$ M, a eficácia dos dois ácidos foi praticamente idêntica, entretanto, quando a concentração aumentou, o ácido cafeico se apresentou como um inibidor mais eficaz.

Amakura et al. (2013) avaliaram a atividade antioxidante de compostos fenólicos extraídos de sementes de girassol, ácido cafeico, cafeato de metila, ácido clorogênico, utilizando como solventes hexano, acetato de etila e água. A avaliação foi realizada com base na capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) sendo que, segundo os autores a fração contendo derivados do ácido cafeico mostrou uma elevada ação antioxidante, seguida pela fração contendo ácido clorogênico.

2.6. Estabilidade oxidativa

As propriedades organolépticas que um alimento apresenta (tal como aroma, sabor, cor e textura) possuem relação direta com os lipídeos presentes os quais também agregam valor nutritivo, constituindo uma fonte de energia, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (SILVA, et al., 1999; WARNER, et al., 1997).

Os lipídeos são constituídos por uma mistura de tri, di, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, esteróis, fosfolipídeos e glicolipídeos, entre outras substâncias. Estes constituintes podem apresentar oxidação em diferentes graus, sendo os ácidos graxos insaturados as estruturas mais susceptíveis ao processo oxidativo (FERRARI et al., 2005).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, que provocam alterações e afetam a qualidade nutricional do alimento. A oxidação lipídica ocorre devido a degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, atingindo a integridade e segurança alimentar, além de afetar o valor comercial do produto e de todos os subprodutos que a partir deste serão gerados (XIONG et al., 2001).

Várias pesquisas têm evidenciado a relação entre o estresse oxidativo e uma gama de variedades de processos fisiológicos e patológicos, ocasionando

severos danos à saúde, tais como, proliferação celular, apoptose e outras doenças cardiológicas e degenerativas. Os danos que essas espécies reativas de oxigênio causam interferem, também, na indústria alimentícia, que sofre deterioração de gorduras presentes nos alimentos pela oxidação lipídica e também levam os alimentos aos quadros de *off-flavor* (BRAND-WILLIAMS e BERSET, 1995; PAPAS, 1996).

Para retardar ou prevenir a deterioração oxidativa, antioxidantes sintéticos vem sendo empregados como aditivos alimentares em muitos países, entretanto, relatórios indicam que estes compostos podem estar relacionados com o aparecimento de várias doenças, incluindo o câncer. Por isso, atualmente o uso de recursos naturais como antioxidantes de origem natural, tende a substituir os antioxidantes sintéticos como BHT (hidroxitolueno butilado), BHA (butil-4-hidroxianisol) e TBHQ (terc butil hidroquinona), como demonstrado em pesquisa realizada por Abdalla e Roozen (1999).

A estabilidade oxidativa é um parâmetro importante para avaliação de gorduras animais e vegetais e é utilizada para avaliar a qualidade de óleos. A perda da estabilidade oxidativa de um óleo se deve a reações de oxidação de lipídeos, que ocorre quando o oxigênio atmosférico reage com os ácidos graxos insaturados. As reações químicas envolvidas nesse processo são muito complexas e geram produtos sensorialmente inaceitáveis. Produtos que tenham sofrido processo de oxidação tendem a escurecer, aumentar a viscosidade e formar espumas, além de desenvolverem sabor indesejável (LAUBLI e BRUTTEL, 1986; REISHE et al., 1997).

Os métodos para determinação de estabilidade oxidativa foram concebidos a partir de tentativa de prever a vida de prateleira de óleos. Para avaliar a estabilidade oxidativa ou sua suscetibilidade à oxidação, o óleo é submetido a teste de oxidação acelerada, sob diferentes condições, a fim de se observar sinais de deterioração. Os testes de oxidação podem incluir o emprego de elevadas temperaturas, adição de metais, aumento de pressão de oxigênio, estocagem sob luz e agitação, como demonstrado na Tabela 12.

Tabela 12. Características dos métodos de determinação de estabilidade oxidativa

Teste	Condições
Estocagem normal	Temperatura ambiente e pressão atmosférica
Estocagem sob luz	Temperatura ambiente e pressão atmosférica
Catálise metálica	Temperatura ambiente e pressão atmosférica
Método de aumento de peso	30-80 °C e pressão atmosférica
Método estufa	60-70 °C e pressão atmosférica
Bomba de oxigênio (ASTM)	99 °C e 65-115 psi de oxigênio
Active Oxygen Method	98 °C e fluxo de ar
Rancimat	100-115 °C e fluxo de ar

Adaptado de Antoniassi (2001).

Um dos parâmetros que influenciam na oxidação dos lipídeos é o grau de insaturação dos ácidos graxos, uma vez que diferenças nas estruturas químicas podem ocasionar variabilidade nas taxas de oxidação. Outra alteração lipídica de grande importância é a hidrólise de lipídeos, que como consequência gera ácidos graxos livres, o que também reduzirá o tempo de vida útil do óleo (MIYASHITA e TAKAGI, 1986).

A oxidação lipídica engloba fenômenos conhecidos como reações hidrolíticas, as quais podem ser subdivididas em três tipos: pela ação das enzimas lipase (oxidação enzimática), pela ação do calor e da umidade (fotooxidação) e pela formação de ácidos graxos livres (autooxidação) (RAMALHO e JORGE, 2006).

A oxidação enzimática, como o próprio nome sugere, ocorre por via enzimática, onde as enzimas lipoxigenases, que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisam a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada, resultando na formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, que podem gerar diferentes reações degenerativas (RAMALHO e JORGE, 2006).

A fotooxidação de óleos insaturados é desencadeada especialmente pela radiação ultra violeta em presença de clorofila, mioglobina, riboflavina e outros, conhecidos como fotossensibilizadores, os quais irão absorver a energia luminosa de comprimento de onde na faixa do visível, transferindo para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singleto ($^1\text{O}_2$). O oxigênio singleto

reage diretamente com as duplas ligações formando hidroperóxidos que posteriormente degradarão os lipídeos a aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos.

A autoxidação dos lipídeos está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas. Na iniciação ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula, em condições favorecidas por luz e calor.

Na propagação, os radicais livres são susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico.

Na sequência, os radicais combinam-se com a formação de produtos estáveis, ou seja, produtos secundários de oxidação obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (compostos voláteis e não voláteis) (RAMALHO e JORGE, 2006).

onde, RH – ácido graxo insaturado; R[•] - radical livre, ROO[•] - radical peróxido e ROOH – hidroperóxido.

A estabilidade oxidativa dos óleos pode ser influenciada por vários fatores, como a composição em ácidos graxos, o teor de antioxidantes naturais que compõem o óleo e a presença de compostos pró-oxidantes, como os

peróxidos lipídicos. Os tocoferóis e fitosteróis agem como antioxidantes que protegem os óleos da oxidação lipídica, conforme demonstrado por Winkler-Moser e Breyer (2011). Os autores realizaram a caracterização de óleo extraído do gérmen de milho (corn germ) e óleo extraído de resíduo seco de destilaria (dried distillers grains with solubles, DDGS) e concluíram que o aumento da concentração de tocoferóis e tocotrienóis presentes no DDGS é responsável pela maior estabilidade oxidativa deste material quando comparada ao óleo extraído do gérmen de milho, conforme demonstrado na Tabela 13.

Tabela 13. Caracterização dos óleos obtidos do gérmen de milho (CG) e do resíduo seco de destilaria (DDGS) e a estabilidade oxidativa (110 °C)

	CG	DDGS
Total de tocoferóis (µg/g)	1.433,6	1.104,2
Total de tocotrienóis (µg/g)	235,6	1.762,3
Total de carotenoides (µg/g)	1,33	75,02
Estabilidade oxidativa (h)	3,91 ± 0,04	6,62 ± 0,06

Adaptado por Winkler-Moser e Breyer (2011).

Zang et al. (2010) avaliaram a estabilidade oxidativa do óleo de girassol com diferentes concentrações de ácido carnósico (CA) proveniente de folhas secas de alecrim e compararam com a estabilidade quando utilizados antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e TBHQ. O efeito protetor do ácido carnósico em óleo de girassol foi testado em comparação com os antioxidantes sintéticos durante o armazenamento acelerado, empregando temperatura de 60 °C por 21 dias. Os resultados indicaram que o ácido carnósico apresentou maior atividade antioxidante e maior proteção quando comparado aos antioxidantes sintéticos BHT e BHA, indicando que compostos naturais podem agir de maneira mais eficaz aos antioxidantes sintéticos.

O efeito do extrato etanólico de *Satureja hortensis* L. (nome científico de Segurelha das hortas) no óleo de girassol durante o processo oxidativo empregando alta temperatura (180 °C) foi estudado por Yanishlieva et al. (1997). As alterações durante o processo foram monitoradas pela integridade

dos triacilgliceróis (determinante para os compostos polares da amostra e que resulta como medida de retardação de oxidação). Como resultado, pode-se observar que o extrato etanólico de *S. hortensis* L. melhorou de forma significativa a estabilidade oxidativa do óleo de girassol, diminuindo as alterações térmicas sofridas pelo mesmo.

Os efeitos da temperatura e pressão de oxigênio sobre a deterioração oxidativa durante o armazenamento do óleo bruto de girassol foram estudadas por Crapiste et al. (1999). Os óleos de girassol utilizados para o estudo foram provenientes da prensagem de sementes de girassol e da utilização do solvente hexano. O armazenamento das amostras foi realizado nas temperaturas de 30, 47 e 67 °C, utilizando frascos abertos ou fechados e com ou sem atmosfera de nitrogênio. Os autores observaram que o teor de tocoferóis da classe alfa ou beta apresenta-se maior quando o óleo é extraído por prensagem, entretanto, a estabilidade do óleo é maior quando obtido por solvente. Os autores concluíram que a deterioração oxidativa é totalmente dependente da temperatura de armazenamento, do oxigênio disponível e do volume exposto da amostra.

Óleos de girassol hidrogenado e não hidrogenado foram submetidos por Topallar et al. (1997) a estudos de estabilidade, sob condições atmosféricas e exposição a luz solar. Os experimentos foram realizados em estocagem em recipientes em vidro, PET (tereftalato de polietileno) e metal, sendo que os óleos foram estocados por 30 dias. Os autores inferem que o óleo não hidrogenado oxida mais rápido quando comparado ao hidrogenado. Quando avaliado o tipo de recipiente, o óleo estocado em vidro apresentou deterioração mais acelerada quando comparado ao óleo estocado em recipiente de metal, por se tratar de uma superfície inerte e sem transmissão de luz, protegendo assim, os triacilgliceróis, ácidos graxos e compostos antioxidantes naturais do óleo.

3. OBJETIVOS

Esta dissertação de mestrado apresentou como objetivo principal o estudo do emprego de solventes alcoólicos, etanol e isopropanol, em grau absoluto e azeotrópico, como possíveis substitutos do solvente tradicionalmente utilizado na prática industrial, o hexano, no processo de extração de óleo contido na massa prensada (torta) de sementes de girassol.

Em adição, este trabalho também objetivou verificar qual dos solventes estudados é o mais eficiente para a remoção de ácidos clorogênicos presentes na torta de sementes de girassol, visando a um futuro estudo de produção de isolados protéicos.

Desta forma, visando atingir os objetivos principais, foram realizadas as seguintes atividades:

- Experimentos de extração sólido-líquido em um estágio utilizando os álcoois de cadeia curta, etanol e isopropanol, em grau absoluto ou azeotrópico em diferentes condições de temperatura (60, 70, 80 e 90 °C) com o objetivo de avaliar a viabilidade técnica da utilização destes solventes alternativos em termos de rendimento de óleo, hidratação da fase extrato, índice de retenção de solução no farelo, entre outros;
- Experimentos de extração sólido-líquido em correntes-cruzadas, em três estágios, utilizando etanol e isopropanol, em grau absoluto ou azeotrópico na temperatura de 90 °C. Os óleos brutos obtidos destes experimentos foram submetidos a caracterização físico-química em termos de composição em ácidos graxos, teor de ácidos clorogênicos, teor de fosfolipídeos, teor de tocoferóis e estabilidade oxidativa.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes

- Torta resultante do processo de prensagem das sementes de girassol (Caramuru Ltda, Itumbiara, Goiás – Brasil);
- Óleo bruto de girassol (Caramuru Ltda, Itumbiara, Goiás – Brasil);
- Óleo refinado comercial de girassol (Lisa);
- Etanol absoluto (Merck, pureza $\geq 99,8\%$, CAS 64-17-5. Darmstadt – Alemanha);
- 2-Propanol absoluto (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99,5\%$, CAS 67-63-0. Darmstadt – Alemanha);
- Solução Karl Fischer isenta de piridina (Sigma-Aldrich, mínimo 4,5 - 5,5 mg/mL. Saint Louis, Missouri – Estados Unidos);
- Hexanol absoluto (Merck, pureza $\geq 98\%$, CAS 111-27-3. Hohenbrunn – Alemanha);
- Clorofórmio (Synth, pureza $\geq 99,8\%$, CAS 67-56-1. Diadema, São Paulo – Brasil);
- Hidróxido de sódio (Merck, pureza $\geq 97,0\%$, CAS 1310-73-2. Diadema, São Paulo – Brasil).
- Metanol (Sigma – Aldrich, pureza $\geq 99,9\%$, CAS 67-56-1. Darmstadt – Alemanha);
- Biftalato de potássio (JT Baker, pureza $\geq 95,0\%$, CAS 877-24-7. Phillipsburg, Nova Jersey – Estados Unidos);
- Cloreto de Sódio PA (Synth, pureza $\geq 99,0\%$, CAS 7647-14-5. Diadema, São Paulo – Brasil);
- Éter etílico (Synth, pureza $\geq 98,0\%$, CAS 60-29-7. Diadema, São Paulo – Brasil);
- Sulfato de sódio (Synth, pureza $\geq 99,0\%$, CAS 7757-82-6. Diadema, São Paulo – Brasil);
- EDTA (Leco. Saint Joseph, Michigan – Estados Unidos);
- Com-aid (Leco. Saint Joseph, Michigan – Estados Unidos);

- Padrão ácido clorogênico (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 95 %. Sant Louis, Missouri – Estados Unidos);
- Reagente de esterificação BF₃ (Merck, 20 % em metanol. Darmstadt – Alemanha);
- Mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma-Aldrich. Bellefonte, Pennsylvania – Estados Unidos);
- Padrão interno metiltridecanoato (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 97,0$ %. Sant Louis, Missouri – Estados Unidos);

4.1.2 Equipamentos

- Extrator em aço inoxidável (Marconi, modelo MA-483/EC2. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Banho termo estático digital (Marconi, modelo MA184. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Estufa de vácuo (Tecnal, modelo TE395. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Estufa de convecção forçada (Nova Orgânica, modelo N035/3. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Bomba de vácuo (Tecnal, modelo TE058. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Balança analítica eletrônica de 4 casas decimais (Adam, modelo PW-254. Denbigh East, Milton Keynes – Reino Unido);
- Balança semi analítica eletrônica de 2 casas decimais (Adam, modelo PGW- 1502i. Denbigh East, Milton Keynes – Reino Unido);
- Balança analítica de 5 casas decimais (Sartorius, modelo CPA225D. Goettingen – Alemanha);
- Cromatógrafo gasoso com injetor automático (Shimadzu, modelo GC2010. Chiyoda, Tóquio – Japão);
- Rotaevaporador (Tecnal, modelo TE211. Piracicaba, São Paulo – Brasil);
- Titulador Karl Fischer (Metrohm, modelo 787 KF Titrino. Herisau – Suíça);
- Espectrofotômetro UV-visível (Shimadzu, modelo UV 1650PC. Chiyoda, Tóquio – Japão);
- Deionizador de água (Millipore, modelo Direct-Q 3. Molsheim – França);

- Sistema completo para determinação de nitrogênio/proteína por combustão (Leco, modelo FP528. Sant Joseph, Michigan – Estados Unidos);
- Liquidificador profissional para coquetel (Skymesen, modelo LI-Cocktail, Brasil);
- Sistema de extração de gordura a alta temperatura (Ankom, modelo XT10. Macedon, New York – Estados Unidos);
- Aparelho para determinação de estabilidade oxidativa (Metrohm Rancimat Modelo 873. Herisau, Suíça).

4.1.3 Diversos

- Vidros de amostra,
- Vidrarias em geral (béqueres, erlenmeyers, placas de Petri, balões volumétricos calibrados, tubos de polipropileno para centrifugação, etc.),
- Seringas com agulhas para amostragem,
- Pipetas volumétricas e automáticas,
- Gases especiais para cromatografia gasosa (Procedência: Linde Gases, Sertãozinho, São Paulo - Brasil). Ar Sintético (Pureza: 20 ppm), Hélio (Pureza: 99,995%) e Hidrogênio (99,995 %);
- Gases para o funcionamento do determinador de proteínas por combustão (Leco) (Procedência: Linde Gases, Sertãozinho, São Paulo - Brasil) Ar sintético super seco (Pureza: 20 % de oxigênio em nitrogênio), Hélio (Pureza: 99,995 %) e Oxigênio (Pureza: 99,999 %);
- Cápsulas de gel (Leco),
- Papel filtro (Ankom),
- Cubeta Quartzo,
- Vials para cromatografia gasosa.

4.2 Métodos

A Tabela 14, apresentada na página a seguir, representa de forma sucinta as atividades experimentais realizadas para a execução da dissertação de mestrado, bem como as análises realizadas em cada uma das fases oriundas do processo de extração.

4.2.1 Caracterização da matéria-prima, torta de girassol.

A massa residual (torta) obtida através da prensagem industrial das sementes de girassol, gentilmente cedida pela empresa Caramuru Alimentos (Itumbiara, GO), foi caracterizada em termos de umidade (Ac 2-41, AOCS, 1998), cinzas (AOAC, 2007), lipídeos (Am 5-04, AOCS, 1998), fibras (VAN SOEST et al., 1999) e proteína bruta (Ba 4f-00, AOCS, 1998). Para converter o teor de nitrogênio total em proteínas, o valor foi multiplicado pelo fator 6,25. O óleo da torta de sementes de girassol extraído pelo método a frio sugerido por Bligh e Dyer (1959) foi submetido a análise de composição em ácidos graxos, segundo a metodologia descrita no item 4.2.2.

A porosidade total (ε) da torta de sementes de girassol foi calculada pela Equação 1, onde d_a é a densidade aparente e d_r é a densidade real das partículas. A densidade aparente foi determinada experimentalmente no Laboratório de Engenharia de Separações – LES/ FZEA-USP, através da medição da massa, em gramas, da torta de sementes de girassol que ocupa determinado volume, em mL, enquanto a densidade real das partículas foi determinada na Central Analítica do Instituto de Química da UNICAMP, pelo método de picnometria com gás hélio.

$$\varepsilon (\%) = 100 \left(1 - \frac{d_a}{d_r} \right) \quad (1)$$

Tabela 14. Atividades experimentais realizadas na execução da dissertação de mestrado

Matéria-Prima:	Extração do óleo da torta de sementes de girassol	Caracterização	
Torta de sementes de girassol	Extração sólido-líquido em um estágio (etanol ou isopropanol em grau absoluto ou azeotrópico como solventes, nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C)	Fase Extrato	Teor de água Teor de solvente
		Fase Refinado	Teor de óleo residual Teor de proteínas Teor de solvente
	Extração em correntes cruzadas, em 3 estágios (etanol ou isopropanol em grau absoluto ou azeotrópico como solventes na temperatura de 90 °C)	Fase Extrato (E¹)	Teor de água Teor de solvente
		Fase Refinado (R¹)	Teor de óleo residual Teor de proteínas Teor de solvente Teor de ácidos clorogênicos
Caracterização:			
Umidade			
Óleo			
Proteínas			
Fibras			
Cinzas			
Carboidratos			
Composição em ácidos graxos			
Teor de ácidos clorogênicos			
Após as extrações (estágio simples ou sequencial), as fases extrato foram submetidas a evaporação para obtenção do óleo de girassol		Óleo de girassol	Teor de ácidos clorogênicos Teor de tocoferóis Teor de fosfolídeos Avaliação da estabilidade oxidativa Composição em ácidos graxos

4.2.2 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos do óleo da torta de sementes de girassol, do óleo bruto de girassol obtido via hexano pela Caramuru e, também, dos óleos obtidos das extrações com solventes alcoólicos foi determinada por cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos graxos, de acordo com os métodos oficiais Ce 1-62 e Ce 2-66 da AOCS (1998), utilizando como padrão interno metiltridecanoato (ZENEBON et al., 2008).

O cromatógrafo gasoso Shimadzu 2010 AF (Japão), com injetor automático (Shimadzu, modelo AOC 20i, Japão) e detector de ionização de chama foi utilizado nas seguintes condições experimentais: coluna capilar altamente polar de bis-cianopropil polisiloxano 0,20 μm , 100 m x 0,25 mm diâmetro interno (Shimadzu – 2560, Supelco, EUA), hélio como gás de arraste (com velocidade linear de 19,5 cm/seg); temperatura do injetor de 250 °C, temperatura da coluna de 140 °C (durante 5 minutos), de 140 a 240 °C (a uma taxa de 4 °C/min), 240 °C (durante 15 minutos); temperatura do detector de 260 °C e volume de injeção de 1,0 μL ; *Split* 100:1. Foi possível identificar os ácidos graxos por comparação com padrões externos adquiridos da Supelco (EUA). A quantificação foi realizada com base nas relações de área de cada ácido graxo com a área do padrão interno, utilizando os fatores de correção de resposta do detector de ionização de chama e de conversão de ésteres metílicos de ácidos graxos.

4.2.3 Extração de ácidos clorogênicos totais presentes na torta de sementes de girassol

Para determinar o teor total de ácidos clorogênicos presentes na torta de sementes de girassol foi adotada a metodologia descrita por González-Perez et al. (2002) com modificações. Amostra de torta de sementes de girassol de aproximadamente 2,5 gramas foi submetida à extração em configuração de corrente cruzada, conforme descrito no item 4.2.5, empregando 4 estágios, utilizando como solvente metanol:água 80:20, em massa e razão sólido:solvente de 1:80, em massa. Após a extração, as fases extrato provenientes de todos os estágios foram reunidas e submetidas a rotaevaporação do solvente, utilizando a temperatura de 50 °C e a

pressão de 600 mmHg. O material obtido foi submetido a análise de determinação de ácidos clorogênicos, como descrito no item 4.2.8 e análise de água, conforme item 4.2.6. Após estas determinações foram realizados os cálculos de balanço de massa para determinação dos ácidos clorogênicos totais da matéria-prima, considerando que todo o ácido clorogênico foi extraído pelo solvente metanólico na extração sequencial.

4.2.4 Extração sólido-líquido em um estágio utilizando solventes alcoólicos

Para a execução dos experimentos de extração de óleo da torta de sementes de girassol foi utilizado um extrator em aço inoxidável, equipamento existente no Laboratório de Engenharia de Separações (LES-FZEA/USP) (Figura 7.a) composto por manômetro, válvula de escape e rotor. O equipamento é vedado a fim de evitar perdas de massa por evaporação. Os controles de temperatura e velocidade são realizados por controladores próprios do equipamento.

Massas conhecidas da torta de girassol foram acondicionadas em cesto de aço inox (Figura 7.b) pertencente ao próprio extrator, o qual é resistente ao ataque do solvente e temperatura. Em seguida, foi adicionada massa conhecida do solvente alcoólico, etanol ou isopropanol, em grau absoluto ou hidratado, mantendo a proporção 1:3 (farelo:solvente) em massa, conforme sugerido por Oliveira et al. (2012). O extrator foi submetido a temperatura constante (60, 70, 80 ou 90 °C) e velocidade de agitação constante de 175 rpm por 60 minutos, conforme a condição experimental programada.

Figura 7. (a) Extrator composto por manômetro, válvula de escape e rotor. (b) Cesto de aço inoxidável para acondicionamento da torta.

Fonte: Própria autoria

Após a extração, as amostras da fase extrato foram retiradas por uma válvula localizada na parte inferior do extrator e foram submetidas a diferentes análises, sendo estas: teor de água (item 4.2.6) e teor de solvente (item 4.2.7). O extrato foi submetido a rotaevaporação, na temperatura de 50 °C e pressão de 600 mmHg, em seguida foi submetido a secagem em estufa a 40 °C sob pressão de 600 mmHg, até o peso constante para garantir a retirada total do solvente. O óleo de girassol obtido foi submetido às análises de: teor de ácidos clorogênicos (item 4.2.8) e composição em ácidos graxos (item 4.2.2). A fase refinado obtida do processo de extração foi submetida a análise do teor de solvente (item 4.2.7), massa de solução aderida às fibras (Índice de retenção, item 4.2.13), teor de nitrogênio para o cálculo da quantidade de proteína (4.2.11) e teor de óleo residual no farelo (4.2.12).

4.2.5 Extração sequencial, em correntes cruzadas, para obtenção de óleo de torta de sementes de girassol

A extração sequencial foi realizada em três estágios, sob as mesmas condições de temperatura, 90 °C, razão farelo:solvente, 1:3 em massa, e velocidade de agitação, 175 rpm, a partir de um mesmo sólido (torta de sementes de girassol), conforme apresentado na Figura 8. Cada etapa de extração do processo sequencial foi realizada conforme o item 4.2.4, utilizando etanol ou isopropanol em grau absoluto ou hidratado.

Figura 8. Esquema da extração sequencial em três estágios.

Fonte: Própria autoria

As fases extrato provenientes dos estágios foram reunidas e analisadas em termos de teor de solvente (item 4.2.7) e teor de água (item 4.2.6). O extrato reunido dos três estágios foi submetido a rotaevaporação e secagem em estufa sob vácuo seguindo as mesmas condições apresentadas no item 4.2.4, e o óleo obtido foi analisado em termos do teor de ácidos clorogênicos (item 4.2.8), teor de tocoferóis (item 4.2.9), teor de fosfolípidos (item 4.2.10) e avaliação da estabilidade oxidativa (item 4.2.11). A fase refinado foi mantida no cesto, em descanso, por 5 minutos, para garantir a drenagem da solução. Após este período o material foi submetido a pesagem com precisão de 0,01 g em uma balança de precisão para determinação da massa de fase refinado e posterior cálculo do índice de retenção. A fase refinado foi analisada em termos de teor de solvente (item 4.2.7), teor de proteínas (item 4.2.11), teor de óleo residual (item 4.2.12) e submetida a extração metanólica, conforme o item 4.2.3, para a determinação do teor de ácidos clorogênicos.

4.2.6 Determinação do teor de água

Para a determinação do teor de água nos solventes alcoólicos e nos extratos obtidos dos experimentos foi utilizado o método oficial de titulação Karl Fischer Ca 2e-84 (AOCS, 1998). Amostras de 0,01 a 1,0 g foram tituladas com solução de Karl Fischer (KF) empregando metanol/clorofórmio como solvente na proporção de 4:1, em volume.

A porcentagem mássica de água nas amostras foi fornecida automaticamente pelo aparelho, sendo calculada através da Equação 2:

$$\text{Água (\%)} = \frac{(\text{volume KF utilizado} \times \text{título KF})}{\text{massa da amostra}} \times 100 \quad (2)$$

Todas as análises foram realizadas pelo menos em triplicata.

4.2.7 Determinação do conteúdo de solvente

O teor de solvente (etanol + água ou isopropanol + água) foi determinado por evaporação. Aproximadamente 1,0 g da fase extrato foi pesada em placa de Petri, em quintuplicata, e levada à estufa de convecção forçada a temperatura de 60 °C durante 24 horas, tempo estabelecido por trabalhos anteriores (CAPELLINI, 2013), até atingir a massa constante. O teor de solvente também foi determinado para a fase refinado utilizando a mesma equação (3). O farelo desengordurado proveniente da extração foi acomodado em placa petri e levado a estufa sob as mesmas condições da determinação da fase extrato (60 °C por 24 horas em estufa de convecção forçada).

O teor de solvente é dado pela Equação 3:

$$\text{Solvente (\%)} = \frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final}) \times 100}{\text{massa inicial}} \quad (3)$$

4.2.8 Determinação do teor de ácidos clorogênicos

Para avaliar o teor de ácidos clorogênicos presentes no óleo foi adotada a metodologia por espectrofotometria descrita por Sineiro et al. (1996). Para determinar o comprimento de onda a ser utilizado, realizou-se uma varredura com a solução padrão de ácido clorogênico em etanol em toda a faixa do espectro UV-Visível. A curva de calibração ($y=a*x$, na qual y é a absorbância, x é a composição em $\mu\text{g/g}$ e a é o coeficiente angular da reta) foi construída com soluções de composições do padrão de ácido clorogênico em etanol no comprimento de onda de máxima absorção (vide Apêndice 1).

Massas conhecidas, que variaram de 0,0114 a 0,1100 g, de óleo obtido através da extração sólido-líquido em um estágio e extrações em correntes cruzadas em três estágios foram solubilizadas com massas conhecidas de etanol absoluto, e submetidas à leitura em espectrofotômetro UV- visível no comprimento de onda de 330 nm.

O teor de ácidos clorogênicos expresso em % é dado pela Equação 4.

$$\text{Ácidos Clorogênicos (\%)} = \frac{\text{Abs}}{10000 \times a_{\text{coeficiente angular}}} \times \frac{(\text{massa}_{\text{amostra}} + \text{massa}_{\text{solvente}})}{\text{massa}_{\text{amostra}}} \quad (4)$$

4.2.9 Determinação do teor de tocoferóis

Análises cromatográficas, em cromatógrafo líquido de ultra eficiência acoplado a espectrômetro de massas (Waters modelo Acquity Ultra Performance, Milford, MA, EUA) com bomba binária, compartimento de coluna termostatizado e injetor automático, análise de massas em detector Waters quadrupolo simples (Single quadrupole – SQD) foram realizadas no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio da FEA-UNICAMP para a quantificação de tocoferóis nas amostras oriundas do processo de extração em configuração de corrente cruzada. Para esta determinação utilizou-se a metodologia proposta por Marina Ansolin, no desenvolvimento de sua tese de doutorado desenvolvida no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio da FEA-UNICAMP,

sob a orientação do Prof. Dr. Eduardo Augusto Caldas Batista (ANSOLIN et al., 2015).

4.2.10 Determinação do teor de fósforo

A análise do teor de fósforo foi realizada por espectrometria de emissão óptica em plasma acoplado (ICP-OES) de acordo com o método Ca 20-99 (AOCS, 1998) no Laboratório Exata (Jataí, Goiás). Esta análise foi realizada para as amostras de óleos de torta de sementes de girassol oriundas do processo de extração em correntes cruzadas de três estágios, para a amostra de óleo de torta de sementes de girassol bruto obtida industrialmente com hexano e, também, para a amostra de óleo refinado comercial Liza.

De acordo com o método oficial Ca 12-55 (AOCS, 1998), a quantidade de fósforo medida foi transformada em equivalentes de fosfolipídeos multiplicando-se o resultado em fósforo pelo fator de conversão 30.

4.2.11 Avaliação da estabilidade oxidativa

A avaliação da estabilidade oxidativa dos óleos obtidos das diferentes condições experimentais foi realizada através do equipamento Rancimat. Aproximadamente 3,0 g de óleo de torta de sementes de girassol foram pesados em tubos pertencentes ao aparelho e submetidos a temperatura de 110 °C, com fluxo de ar contínuo de 20 L/h, conforme descrito por Del-Ré e Jorge (2006) e Corsini e Jorge (2006). Neste experimento, uma curva de condutividade elétrica $\times$ tempo é automaticamente gerada pelo equipamento, e o período de indução é determinado em horas.

4.2.12 Determinação do teor de proteínas na fase refinado

Para a determinação do teor de proteínas na fase refinado foi realizada a quantificação do teor de nitrogênio presente nas amostras através do método oficial AOCS Ba 4f-00 (1998), utilizando-se o determinador de proteínas Leco (modelo FP-528), calibrado com 150 mg de padrão EDTA (Leco). Amostras da fase refinado foram pesadas em placas de Petri e levadas para secagem em estufa de convecção

forçada, a temperatura de 60 °C durante 24 horas. A fase refinado seca foi triturada utilizando-se um liquidificador profissional (Skymssen, Modelo LI-Cocktail) para obtenção de pó fino. Após este procedimento, amostras de 150 mg foram pesadas em cápsulas de gel próprias para análise, e a quantidade de nitrogênio determinada foi multiplicada pelo fator 6,25 para obtenção do resultado em termos de proteínas.

4.2.13 Determinação do teor de óleo residual na fase refinado

Para a avaliação do teor de óleo residual na fase refinado foi utilizado um sistema de extração com solvente à alta temperatura (método Am 5-04, AOCS, 1998). Cerca de 1,5 g da fase refinado foram pesadas em papel filtro próprio para extração sendo este selado de modo a acomodar a amostra. As amostras foram submetidas a secagem por 3 horas, na temperatura de 105 °C. Em seguida, os porta-amostras foram pesados novamente e levados ao extrator, onde o hexano foi utilizado como solvente de extração na temperatura de 90 °C durante uma hora.

O teor de óleo residual nas amostras foi calculada a partir da Equação 5.

$$\text{Óleo Residual (\%)} = \frac{(\text{Massa Inicial} - \text{Massa Final}) \times 100}{\text{Massa Inicial}} \quad (5)$$

4.2.14 Determinação do índice de retenção

Avaliou-se o teor de solução extrato aderida à massa de sólidos inertes, expresso em kg de solução aderida/ kg de sólidos inertes, nomeado como índice de retenção. Esta variável do processo foi determinada logo após a extração; o cesto de aço inoxidável contendo a fase refinado foi removido do extrator, mantido suspenso, em repouso por 5 minutos para drenagem do líquido e submetido a pesagem em balança de precisão para avaliação da massa da fase refinado e posterior realização de balanços de massa para estimativa do índice de retenção.

4.2.15 Cálculos de balanço de massa para avaliação da qualidade dos dados experimentais

A repetibilidade e acuracidade dos resultados dos experimentos de extração foram avaliadas conforme sugerido por Marcilla et al. (1995) e adaptado para

sistemas de extração sólido-líquido por Rodrigues e Oliveira (2010), Rodrigues et al. (2010), Sawada (2012) e Capellini (2013).

Após as extrações sólido-líquido em um simples estágio e em correntes cruzadas, duas fases distintas denominadas extrato e refinado são resultantes do processo. A fase extrato se caracteriza por ser rica em solvente e enriquecida dos compostos de interesse, e na fase refinado predominam os sólidos insolúveis, mas esta ainda contém uma fração da fase extrato que fica retida na matéria sólida.

Para cada estágio, podem ser escritos i balanços independentes por componente do sistema segundo Equação 6 (MARCILLA et al., 1995):

$$M^{PM}w_i^{PM} = M^{FR}w_i^{FR} + M^{FE}w_i^{FE} \quad (6)$$

na qual, M^{PM} é a massa da mistura inicial ou ponto de mistura, M^{FE} e M^{FR} são as massas das fases extrato e refinado, respectivamente; w_i^{PM} é a fração mássica do componente i na mistura inicial e w_i^{FE} e w_i^{FR} são as frações mássicas do componente i nas fases extrato e refinado, respectivamente.

Através destas i equações, torna-se possível calcular os valores de w_i^{FR} com base nos valores experimentais de w_i^{FE} e M^{FR} , pelo método dos mínimos quadrados.

Se $\mathbf{M}$ é a matriz formada pelos valores de w_i^{PM} , $\mathbf{B}$ é a matriz transformação (composta pelos valores de w_i^{FE} e w_i^{FR}) e $\mathbf{P}$ é a matriz formada pela massa de cada fase (M^{FR} e M^{FE}), o sistema pode ser escrito como:

$$\mathbf{M} = \mathbf{B}\mathbf{x}\mathbf{P} \quad (7)$$

Cálculos matemáticos levam à seguinte expressão:

$$\mathbf{P} = (\mathbf{B}^T\mathbf{B})^{-1}\mathbf{B}^T\mathbf{M} \quad (8)$$

na qual $\mathbf{B}^T$ é a matriz transposta de $\mathbf{B}$ e $(\mathbf{B}^T\mathbf{B})^{-1}$ é a matriz inversa de $(\mathbf{B}^T\mathbf{B})$. Desta forma, os valores de M^{FE} e w_i^{FR} que minimizam os erros do sistema podem ser calculados.

Vale ressaltar que M^{FR} foi avaliada para cada sistema e pelo balanço de massa global:

$$M^{PM} = M^{FR} + M^{FE} \quad (9)$$

O desvio relativo global, δ , entre a soma ($M^{FE} + M^{FR}$) e M^{PM} , pode ser calculado de acordo com a Equação 10.

$$\delta = (|(M^{FR} + M^{FE}) - M^{PM}|/M^{PM}) \times 100 \quad (10)$$

4.2.16 Análise estatística

Os valores médios dos resultados provenientes dos experimentos de extração foram comparados por análise de variância utilizando o teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %, com auxílio do programa SAS (Versão 9.2, SAS Institute Inc., EUA).

4.2.17 Estimativa das incertezas por propagação de erros

A equação utilizada para a propagação de erros foi a sugerida por Cruz et al. (1997) sendo, por exemplo, para a estimativa da incerteza associada a porosidade (Equação 11).

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon \sqrt{\left(\frac{\Delta d_a}{d_a}\right)^2 + \left(\frac{\Delta d_r}{d_r}\right)^2} \quad (11)$$

Onde ε é a porosidade, Δd_a é o desvio da densidade aparente, d_a é a densidade aparente, Δd_r é o desvio da densidade real e d_r é a densidade real.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da matéria-prima

A Figura 9 apresenta a matéria-prima, torta de sementes de girassol em sua forma integral cedida pela empresa Caramuru Alimentos Ltda., antes de ser submetida ao processo de extração.

Figura 9. Torta de sementes de girassol cedida pela Caramuru Alimentos Ltda.

Fonte: Própria autoria

A torta de sementes de girassol foi caracterizada em termos de composição química e o óleo, obtido da torta através de extração a frio pelo método de Bligh Dyer (1959), foi caracterizado em termos de composição em ácidos graxos. Os resultados destas caracterizações estão apresentados nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

De maneira geral, é possível verificar que os resultados apresentados nas tabelas de composição química e composição em ácidos graxos estão de acordo com os dados expressos na literatura, entretanto vale enfatizar que a semente de girassol pode sofrer algumas modificações em sua composição devido ao clima, solo e modo de plantio, interferindo na composição química e na composição em ácidos graxos do óleo extraído.

Os valores apresentados na Tabela 15, referentes a composição química da torta de sementes de girassol são próximos aos valores reportados por Berwanger (2013) e Chung et al. (2009).

Segundo Berwanger (2013), a torta de sementes de girassol apresenta 8 % de umidade, 24,4 % de proteínas, 23,8 % de lipídeos e 4,1 % de cinzas, dados semelhantes ao encontrado por Chung et al. (2009), que relataram 4,5 % de cinzas, 27,79 % de lipídeos, 19,9 % de proteínas e 47,9 % de carboidratos totais.

O teor total de ácidos clorogênicos presente na torta de sementes de girassol também se encontra semelhante ao descrito em estudo de Geneau-Sbartai et al. (2008), 2,8 % de acordo com os autores.

Tabela 15. Composição química da torta de sementes de girassol

Componente	Média $\pm$ desvio padrão (%)	Dados da Literatura (%)
Umidade	5,8 $\pm$ 0,4	8 ^d
Proteínas ^{a,b}	19,6 $\pm$ 0,7	19,9 - 24,4 ^{d,e}
Lipídeos ^a	25,6 $\pm$ 0,2	23,8 – 27,79 ^{d,e}
Fibras ^a	29,5 $\pm$ 0,5	-
Cinzas ^a	4,30 $\pm$ 0,06	4,1 – 4,5 ^{d,e}
Carboidratos totais ^c	51 $\pm$ 1	47,9 ^e
Ácidos clorogênicos	2,42 $\pm$ 0,02	2,8 ^f
Densidade aparente (g/cm ³)	0,427 $\pm$ 0,007	0,4 $\pm$ 0,1 ^g
Densidade real (g/cm ³)	0,669 $\pm$ 0,005	-
Porosidade (%)	36,2 $\pm$ 0,7	-

^a em base seca. ^b N x 6,25. ^c calculado por diferença. ^d Berwanger (2013). ^e Chung et al. (2009). ^f Geneau-Sbartai et al. (2008). ^g Castro e Pinto (2009)

Os valores de densidade aparente encontrados neste presente estudo também estão de acordo com os reportados por Castro e Pinto (2009), que relataram densidade aparente de 0,4 $\pm$ 0,1 g/cm³ para torta de sementes de girassol.

Com relação à composição em ácidos graxos, é possível observar que o óleo extraído da torta de sementes de girassol, matéria-prima deste trabalho, apresentou-se de acordo com os dados apresentados por Firestone (2006). Através dos dados apresentados na Tabela 16 pode-se observar que os ácidos graxos majoritariamente presentes no óleo extraído da torta de sementes de girassol são os ácidos linoleico, oleico e palmítico, sendo que os valores da massa molar média e da razão entre

ácidos graxos insaturados e saturados apresentaram-se de acordo com os valores da literatura.

Tabela 16. Composição em ácidos graxos do óleo contido na torta de sementes de girassol

Acido graxo	Cx:y ^a	MM ^b (g·mol ⁻¹)	Mol (%)	Massa (%) ^c	Dados da Literatura (%) ^d
Mirístico	C14:0	241,35	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0 – 0,2
Palmítico	C16:0	256,43	6,1 ± 0,1	5,6 ± 0,1	5,0 – 8,0
Estearico	C18:0	284,49	3,2 ± 0,3	3,2 ± 0,3	2,5 – 7,0
Oleico	C18:1	282,47	26 ± 1	26 ± 1	13,0 - 40,0
Linoleico	C18:2	280,45	62,2 ± 0,7	62,2 ± 0,7	48,0 – 74,0
Eicosapentanoico	C20:5	302,45	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,2	<i>nd</i>
Behênico	C22:0	340,60	0,51 ± 0,07	0,62 ± 0,08	0,50 – 1,3
Docosadienóico	C22:2	350,58	0,06 ± 0,08	0,07 ± 0,09	<i>nd</i>
Docosahexaenóico	C22:6	328,49	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	<i>nd</i>
Lignocérico	C24:0	368,65	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0 – 0,4
Massa molar média (g·mol ⁻¹)				280,51 ± 0,04	279,85 ± 0,04
Razão Insaturados/Saturados				8,80 ± 0,09	6,7 ± 0,4

^a Cx:y, x = número de carbonos e y = número de duplas ligações.

^b Massa molar.

^c Óleo extraído da torta de sementes de girassol pela metodologia de Bligh e Dyer (1959).

^d Firestone (2006).

5.2 Avaliação da qualidade dos dados experimentais

Os desvios de massa global de todos os experimentos de extração foram calculados pelo método proposto por Marcilla et al. (1995), conforme descrito no item 4.2.13, Equação 10.

Na Tabela 17 são apresentados os desvios dos experimentos realizados, e o número de repetições para cada condição experimental. Vale ressaltar que o número de repetições não foi padronizado, mas foi definida de acordo com a qualidade dos resultados, entretanto, foram realizadas no mínimo duas repetições para cada condição experimental referente ao estudo da extração sólido-líquido em um estágio.

Tabela 17. Desvios obtidos para os experimentos de extração sólido-líquido em um estágio

T (°C)	Solvente		δ (desvio relativo) médio (%)	Repetições
60	Etanol	0 % de água	0,05	3
		6 % de água	0,14	2
	Isopropanol	0 % de água	0,12	2
		12 % de água	0,46	2
70	Etanol	0 % de água	0,11	4
		6 % de água	0,29	2
	Isopropanol	0 % de água	0,10	2
		12 % de água	0,71	2
80	Etanol	0 % de água	0,19	2
		6 % de água	0,48	3
	Isopropanol	0 % de água	0,10	2
		12 % de água	1,19	2
90	Etanol	0 % de água	0,31	2
		6 % de água	1,16	2
	Isopropanol	0 % de água	0,19	2
		12 % de água	0,90	2

Como pode ser observado na Tabela 17, os valores dos desvios relativos médios (δ) variaram de 0,05 a 1,19 %, com uma maior concentração em torno de 0,15 %. Os desvios apresentados acima são referentes ao cálculo de balanço de massa, ou seja, à comparação entre as massas da mistura inicial e as massas das duas fases obtidas, fase extrato e fase refinado.

Os desvios calculados menores que 10 % demonstram que o processo de extração foi realizado de forma cautelosa e com precisão, apresentando dados com boa qualidade e repetibilidade.

5.3 Estudo do processo de extração sólido-líquido em um estágio

Para o estudo do processo de extração sólido-líquido em um estágio foram realizados 36 experimentos para a obtenção do conjunto de dados, sendo as condições experimentais apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18. Condições experimentais empregadas nos experimentos de extração sólido-líquido em um estágio

T (°C)	Teor de água no solvente alcoólico (% em massa)	
60,0 ± 0,1	Etanol	0,24 ± 0,04
		6,09 ± 0,06
	Isopropanol	0,10 ± 0,01
		12,22 ± 0,02
70,0 ± 0,1	Etanol	0,23 ± 0,04
		6,2 ± 0,2
	Isopropanol	0,13 ± 0,04
		12,3 ± 0,4
80,0 ± 0,1	Etanol	0,17 ± 0,03
		6,2 ± 0,2
	Isopropanol	0,15 ± 0,01
		12,05 ± 0,08
90,0 ± 0,1	Etanol	0,13 ± 0,03
		6,27 ± 0,07
	Isopropanol	0,13 ± 0,01
		12,08 ± 0,02

Para cada experimento foram realizadas análises das fases extrato e refinado. O teor de água e o conteúdo de solvente foram monitorados na fase extrato, conforme os itens 4.2.6 e 4.2.7. O óleo obtido da evaporação do solvente contido na fase extrato foi submetido a análise de composição em ácidos graxos, conforme item 4.2.2, porém esta análise foi realizada somente para os extratos provenientes das extrações realizadas nos valores extremos de temperatura, 60 e 90 °C. Estes óleos também foram submetidos a análise de teor de ácidos clorogênicos, conforme descrito no item 4.2.8. Para a fase refinado, o conteúdo de solvente, teor de proteínas, teor de óleo residual e índice de retenção foram determinados de acordo com o descrito nos itens 4.2.7, 4.2.12, 4.2.13 e 4.2.14, respectivamente.

5.3.1 Índice de retenção

Na presente dissertação de mestrado também foi realizada a determinação do índice de retenção, que avalia o teor de solução extrato aderida à massa de sólidos inertes, expresso em kg de solução aderida / kg de sólidos inertes.

O índice de retenção (IR) impacta de forma decisiva o número de estágios necessários para a extração de óleos vegetais e na etapa de dessolventização do farelo desengordurado. De maneira geral, a variável IR depende da viscosidade da solução extrato e da afinidade físico-química entre o solvente e a matriz sólida (WISNIAK et al., 1987).

Na Figura 10 o índice de retenção está apresentado como função da temperatura, para cada condição experimental estudada. Os valores médios de IR são comparados através do Teste de Duncan, ao nível de 95 % de significância e esta análise estatística está apresentada na Tabela 19.

Figura 10. Índice de retenção em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.

Fonte: Própria autoria

Tabela 19. Índice de retenção (kg solução aderida / kg sólidos inertes) da fase refinado para diferentes condições de extração

Temperatura (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0	6	0	12
60	0,62 ± 0,02 Aa	0,80 ± 0,01 Ab	0,51 ± 0 Ac	1,04 ± 0,01 Ad
70	0,61 ± 0,04 Aa	0,78 ± 0,05 Ab	0,48 ± 0,03 ABc	1,03 ± 0,02 ABd
80	0,62 ± 0,03 Aa	0,78 ± 0,02 Ab	0,46 ± 0,01 Bc	0,99 ± 0,02 Bd
90	0,62 ± 0,01 Aa	0,73 ± 0,02 Ab	0,51 ± 0 Ac	1,01 ± 0,02 ABd

Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Como pode ser observado na Tabela 19, nota-se que em relação a variável temperatura do processo esta parece não exercer influência estatística sobre os valores de índice de retenção, para um mesmo tipo de solvente. Entretanto, quando os solventes utilizados são comparados, como no caso dos solventes em grau absoluto, pode-se notar uma diminuição significativa dos valores de índice de retenção em relação aos valores referentes às extrações conduzidas com os solventes hidratados etanol e isopropanol, com 6 e 12 % de água, respectivamente. De fato, para os solventes hidratados os valores de índice de retenção obtidos são maiores.

Em relação a variável temperatura de extração, pode-se observar que em uma mesma temperatura, foram obtidos valores significativamente diferentes para cada tipo de solvente, enfatizando que o índice de retenção aumenta conforme aumenta a hidratação do solvente. Em linhas gerais, os resultados obtidos neste trabalho variaram entre 0,61 e 0,80 kg de solução aderida / kg de sólidos inertes quando utilizado etanol absoluto ou hidratado, e de 0,46 a 1,04 kg de solução aderida / kg de sólidos inertes quando se empregou o álcool isopropílico sendo estes concordantes, em termos de comportamento em função da temperatura e hidratação do solvente, com os reportados por Capellini (2013).

Capellini (2013) extraíndo o óleo de farelo de arroz com os solventes etanol (em grau absoluto e azeotrópico) e isopropanol (absoluto e azeotrópico), relatou que o índice de retenção aumentou com o aumento da hidratação do solvente alcoólico. Comparando-se os valores na temperatura de extração de 80 °C, a autora obteve 0,44 ± 0,02 kg solução / kg de sólidos inertes para extrações com etanol absoluto e

0,36 $\pm$ 0,02 kg solução / kg de sólidos inertes para extrações com isopropanol absoluto.

Rodrigues e Oliveira (2010) estudaram a extração de óleo de farelo de arroz utilizando como solventes etanol com diferentes graus de hidratação, de 0 a 20 %, em massa, nas temperaturas de 40 a 60 °C. Os autores observaram que o índice de retenção se apresenta dependente do teor de água presente no solvente, sugerindo que solventes com maior grau de hidratação, conseqüentemente apresentam maior polaridade resultando assim em uma maior interação com os compostos hidrofílicos presentes na matriz sólida.

O trabalho de Wisniak et al. (1987) também reporta que a polaridade do solvente influencia o índice de retenção. Os autores avaliaram a extração do óleo de jojoba utilizando isopropanol e hexano, sendo que os valores de índice de retenção quando o isopropanol foi utilizado como solvente apresentaram-se maiores que os determinados para as extrações com hexano.

Zhang et al. (2002) estudaram o emprego do isopropanol na extração do óleo de algodão utilizando as matérias primas na forma de lâminas e na forma de flocos. Os autores relacionaram o aumento da eficiência do solvente na extração do material lipídico, com conseqüente diminuição do conteúdo de óleo residual da matriz sólida e conseqüente aumento da viscosidade da fase extrato com o aumento do índice de retenção.

5.3.2 Composição das fases extrato e refinado

A composição da fase extrato em termos do teor de água pode ser observada na Figura 11, em função da temperatura, para cada condição experimental.

Figura 11. Teor de água na fase extrato em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (△) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.

Fonte: Própria autoria

É possível notar na Figura 11 que mesmo quando os solventes em grau absoluto foram utilizados, pode-se determinar a presença de água nas fases extrato. Este fato pode ser associado à fração de água que constitui a matéria prima, no caso, a torta de sementes de girassol, uma vez que esta não foi submetida a secagem antes do processo de extração. De acordo com a Tabela 15, a torta de sementes de girassol apresenta um teor inicial de umidade de aproximadamente 6 %.

Para os solventes azeotrópicos, o teor de água presente nos extratos (como no caso do etanol que apresenta 6 % de água, em massa, e para o isopropanol que apresenta 12 % de água, em massa), é similar ao teor de água presente nos solventes.

Em trabalho sobre a extração de óleo de farelo de arroz (RODRIGUES e OLIVEIRA, 2010), os autores observaram o fenômeno de transferência de água da matriz sólida para a fase extrato, uma vez que utilizaram farelo de arroz em pellets sem secagem prévia. Estes autores inferem que existe um balanço entre a umidade presente na matéria sólida e no solvente durante o processo de extração, indicando que, quanto maior o teor de água inicial do solvente, menor a transferência de água da matéria-prima para a fase extrato.

Na Tabela 20 está apresentada a comparação estatística entre os valores médios de teor de água na fase extrato para cada condição experimental pelo Teste de Duncan, ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 20. Teor de água na fase extrato (% , em massa) para diferentes condições de extração

Temperatura (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0	6	0	12
60	1,4 ± 0,3 Aa	6,48 ± 0,06 Ab	0,92 ± 0,02 Aa	11,3 ± 0,6 Ac
70	1,6 ± 0,2 Aa	6,4 ± 0,5 Ab	1,2 ± 0,1 ABc	11,2 ± 0,0 Ad
80	1,5 ± 0,1 Aa	7,2 ± 0,2 ABb	1,27 ± 0,09 Cc	11,1 ± 0,5 Ad
90	1,76 ± 0,01 Aa	7,9 ± 0,4 ABb	1,43 ± 0,06 BCc	9,71 ± 0,08 Bd

Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Os resultados apresentados na Tabela 20 mostram que o teor de água presente na fase extrato, oriundos de extração com solventes sem hidratação, apresentaram diferenças significativas quando utilizadas as temperaturas de 80 e 90 °C. Os valores dos teores de água nos extratos provenientes das extrações com etanol absoluto foram maiores quando comparados aos valores referentes ao isopropanol absoluto nas temperaturas de 70, 80 e 90 °C.

Essa transferência de água da matriz sólida para a fase extrato pode estar relacionada com as polaridades dos solventes, uma vez que o solvente polar tem maior capacidade de extração de água do que um solvente mais apolar. Akerlöf (1932) relatou dados de polaridade dos solventes etanol e isopropanol nas temperaturas de 20, 40, 50, 60 e 80 °C, expressos como constantes dielétricas. Para a temperatura de 80 °C avaliando os solventes em grau absoluto, a polaridade dos

solventes foi estatisticamente igual, entretanto, quando o solvente foi hidratado com 10 % em água, a polaridade do etanol se apresentou superior ao isopropanol.

Reichardt (1994) avaliando a polaridade de diversos solventes inferiu que o etanol absoluto apresenta maior polaridade (51,9) quando comparado ao solvente isopropanol absoluto (50,7). Na escala sugerida por Reichardt (1994) solventes menos polares, tal como o tetrametilsilano, apresentam valor zero enquanto a água, o solvente mais polar, apresenta o valor 100.

Em linhas gerais, observando-se a Tabela 20 pode-se inferir que a temperatura empregada no processo de extração não é um fator determinante para a transferência de água do sólido para a fase extrato, entretanto, o teor de água inicial no solvente atua de forma significativa para a transferência.

O rendimento de extração dos compostos lipídicos da matéria-prima também foi avaliado neste trabalho. Os resultados estão expressos em gramas do composto de interesse extraído por 100 gramas de torta de sementes de girassol.

O rendimento de extração de óleo pode ser observado como função da temperatura, para cada condição experimental na Figura 12. A análise estatística dos valores médios de rendimento de extração de óleo da torta de sementes de girassol está apresentada na Tabela 21, ao nível de confiança de 95 % pelo Teste de Duncan.

Figura 12. Rendimento da extração de óleo da torta de sementes de girassol (g óleo / 100 g de torta) em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.

Fonte: Própria autoria

Tabela 21. Rendimento médio de óleo (g óleo / 100 g de torta de sementes de girassol) para diferentes condições de extração

Temperatura (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0	6	0	12
60	12,64 ± 0,19 Aa	8,89 ± 0,51 Ab	16,95 ± 0,06 Ac	11,29 ± 0,83 Ad
70	15,14 ± 0,87 Ba	10,46 ± 0,14 Bb	18,77 ± 1,32 ABc	13,72 ± 0,92 Ba
80	17,96 ± 0,36 Ca	13,45 ± 0,88 Cb	20,51 ± 0,11 BCc	15,10 ± 0,44 Bb
90	20,06 ± 0,17 Da	14,77 ± 0,21 Cb	21,05 ± 0,01 Cc	17,27 ± 0,16 Cd

*Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan

Os resultados apresentados na Tabela 21 permitem inferir que o rendimento de extração de óleo da torta de sementes de girassol é influenciado pela temperatura e pelo tipo de solvente utilizado, sendo notadas diferenças estatisticamente significativas quando utilizados solventes em grau absoluto e azeotrópico.

Desta forma, realizando um comparativo entre os solventes utilizados, verifica-se que o teor de água influencia de forma significativa os resultados, sendo que os solventes absolutos (etanol e isopropanol) apresentam maior capacidade de extração de óleo da torta de sementes de girassol, apresentando valores aproximados de 19 g de óleo por 100 g de torta de sementes de girassol quando empregada a temperatura de 80 °C.

Com relação à temperatura, cada tipo de solvente apresentou valores estatisticamente diferentes. Para o etanol absoluto pode-se notar uma tendência de aumento do rendimento de extração do óleo associada à elevação da temperatura. Já para o etanol contendo 6 % de água, observa-se essa tendência do aumento de rendimento apenas para as temperaturas de 60 e 70 °C, porém, para as temperaturas de 80 e 90 °C não houve diferença estatística.

Desta forma, com base nos resultados apresentados pode-se inferir que o aumento da hidratação do solvente prejudica a extração de compostos lipídicos, fato este citado por Johnson e Lusas (1983), que afirmam que a presença de água em solventes alcoólicos reduz a solubilidade dos óleos vegetais.

Em estudos sobre solubilidade de óleos frente a solventes alcoólicos, Rao e Arnold (1957) determinaram a solubilidade de 14 tipos de óleos vegetais empregando isopropanol com diferentes graus de hidratação. Os autores observaram que para o óleo de amendoim a temperatura crítica foi estabelecida nas faixas de 35, 45 e 70 °C, nas hidratações de 2; 4,8 e 9,5 % de água, respectivamente. Entretanto, para o solvente isopropanol absoluto (0 % de água, em massa), foi observada miscibilidade entre óleo e solvente a temperatura ambiente.

Em outro estudo, Rao et al. (1955) avaliaram a solubilidade de óleos de sementes de algodão, amendoim, sésamo e óleo de soja em soluções alcoólicas aquosas utilizando diferentes temperaturas. De acordo com a curva de solubilidade apresentada pelos autores, pode-se inferir que há o aumento de solubilidade de acordo com a elevação da temperatura e com a diminuição da hidratação do solvente.

Relatos de que o aumento da temperatura favorece a transferência de compostos lipídicos podem ser observados em trabalhos anteriores de Sawada (2012), Capellini (2013), entre outros.

O estudo de Sawada (2012), que apresentou como principal objetivo a verificação da viabilidade técnica do emprego de etanol absoluto e hidratado no

processo de extração de óleo de soja relata que, utilizando o etanol absoluto nas temperaturas de 60 a 90 °C, os valores de rendimento de extração de óleo obtidos foram estatisticamente iguais, porém estes foram superiores aos obtidos na temperatura de 40 °C. Entretanto, quando etanol hidratado (6% de água, em massa) foi utilizado como solvente, pode-se notar que o rendimento do óleo aumenta em função da elevação da temperatura, atingindo seu rendimento máximo quando utilizado no processo a temperatura de 90 °C.

Comportamento similar pode ser observado no presente trabalho para o solvente etanol hidratado (6 % de água, em massa) na temperatura de 60, 70 e 80 °C, onde se pode notar um aumento no rendimento de extração. Por outro lado, quando empregado o solvente isopropanol e comparado no intervalo de temperatura de 60 a 90 °C, pode-se inferir que houve aumento no rendimento da extração conforme a elevação da temperatura, porém, os rendimentos nas temperaturas de 70 e 80 °C foram estatisticamente iguais. Na Figura 13 é apresentado o rendimento de extração de óleo de torta de sementes de girassol em relação à quantidade total de óleo contida no material.

Figura 13. Rendimento de extração de óleo da torta de sementes de girassol (%) em função da temperatura de processo: (□) etanol com 0 % de água, em massa; (○) etanol com 6 % de água, em massa; (Δ) isopropanol com 0 % de água, em massa; (◇) isopropanol com 12 % de água, em massa.

Fonte: Própria autoria

Novamente pode-se notar na Figura 13 que os solventes em grau absoluto, etanol e isopropanol apresentaram maior rendimento de extração de componentes lipídicos nas temperaturas de 80 e 90 °C, ultrapassando o patamar de 75 % de extração de óleo contido na matéria prima inicial. Comparando-se os solventes hidratados, etanol e isopropanol (6 e 12 % de água em massa, respectivamente), pode-se inferir que o etanol foi o solvente que resultou no menor rendimento de extração, em toda a faixa de temperaturas utilizada no estudo.

Em trabalho utilizando etanol com diferentes níveis de água (0 a 24 %, em massa) como solventes para a extração de óleo de farelo de arroz, nas temperaturas de 60 a 90 °C, Oliveira et al. (2012) reportaram o mesmo comportamento apresentado nesta dissertação. Os autores observaram que a presença da água exerce influência negativa no rendimento de extração do óleo, diminuindo a extração conforme aumenta a hidratação do solvente. Em relação à temperatura, os autores inferem que o aumento do valor desta variável somente promove a maior extração de sólidos solúveis nas condições em que o solvente possui pequena quantidade de água.

Na presente dissertação de mestrado além de monitorar a extração de compostos lipídicos, o comportamento dos compostos proteicos também foi avaliado em função da variável temperatura e dos solventes estudados.

Na Figura 14 estão apresentados os teores de proteínas na torta de sementes de girassol, antes de ser submetida ao processo de extração de óleo, e na fase refinado, ou seja, após o processo de extração de óleo, para cada condição experimental.

Na Tabela 22 estão apresentados os valores de proteínas na fase refinado comparados estatisticamente com o valor referente ao material inicial, torta de sementes de girassol, pelo Teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %.

Figura 14. Teor de proteínas da fase refinado comparado ao teor de proteínas da torta inicial ($20,86 \pm 0,08\%$, em base seca), em função da temperatura de processo.

Fonte: Própria autoria

Tabela 22. Teor de proteínas na fase refinado (% , em base seca) para diferentes condições de extração

Temperatura (°C)	Etanol			Isopropanol	
		0	6	0	12
	Torta inicial	20,9 ± 0,6 A	20,9 ± 0,6 A	20,9 ± 0,6 A	20,9 ± 0,6 A
60	20,9 ± 0,6 a	25,3 ± 0,4 Bb	25 ± 1 Bb	28,3 ± 0,1 BCc	25,5 ± 0,7 Bb
70	20,9 ± 0,6 a	27 ± 2 BCb	24 ± 1 Bb	27,86 ± 0,01 BCc	27 ± 1 BCb
80	20,9 ± 0,6 a	28,9 ± 0,2 CDb	28 ± 2 Bb	27 ± 1 Bb	29 ± 1 Cb
90	20,9 ± 0,6 a	30 ± 1 Db	28,6 ± 0,4 Cb	29,3 ± 0,9 Cb	28,2 ± 0,6 BCb

*Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Como pode ser observado na Figura 14, os teores de proteínas da fase refinado são significativamente superiores ao teor de proteínas presente na torta inicial, independente da condição empregada no processo de extração.

Capellini (2013) observou comportamento semelhante para a proteína contida na fase refinado oriunda do processo de extração de óleo de farelo de arroz utilizando etanol e isopropanol, em grau absoluto e hidratado, como solventes nas temperaturas de 50 a 80 °C.

Pode-se observar também que os teores de proteínas nas fases refinados apresentam diferentes comportamentos em função do aumento da temperatura, como no caso do solvente etanol azeotrópico. Para este solvente hidratado, nota-se que quando empregada temperatura de 90 °C, o teor de proteína na fase refinado se apresenta estatisticamente maior.

Para os demais solventes, etanol absoluto, isopropanol absoluto e isopropanol azeotrópico o aumento da temperatura não apresentou efeito estatisticamente significativo.

Ao analisar a Tabela 22 e comparar com os resultados de extração do óleo (Tabela 21) nota-se que os resultados estão coerentes, pois os valores de proteínas superiores nas fases refinado estão relacionados com a extração do óleo no material sólido.

Ou seja, quanto maior a quantidade de óleo extraído, maior será o teor de proteínas na fase refinado derivada do processo de extração. Este fato pode ser observado quando utilizado o solvente isopropanol absoluto, o qual apresentou maior rendimento de extração de óleo e, conseqüentemente, maior teor de proteínas na fase refinado em toda a faixa de temperatura estudada.

A transferência de ácidos clorogênicos presentes na torta de sementes de girassol para a fase extrato também foi monitorada na presente dissertação de mestrado. Na Figura 15 estão apresentados os valores de teor de ácidos clorogênicos nos óleos de girassol obtidos nos diferentes experimentos.

Como citado anteriormente, os ácidos clorogênicos, assim como outros compostos fenólicos, exercem efeitos antagônicos a peroxidação lipídica e possuem caráter antioxidante, contribuindo assim para a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais (KARTHIKESAN et al., 2010; KARAMAË et al., 2012). Por outro lado, vale ressaltar a importância da remoção dos ácidos clorogênicos do farelo de girassol

para a viabilização da utilização da fração proteica, tanto na alimentação humana como animal.

Na Tabela 23 estão apresentados os valores de ácidos clorogênicos nos óleos os quais foram comparados estatisticamente entre as temperaturas e os solventes utilizados, pelo Teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 23. Teor de ácidos clorogênicos presentes no óleo de sementes de girassol (%), em diferentes condições experimentais

Temperatura (°C)	Etanol		Isopropanol	
	0	6	0	12
60	0,12 ± 0,02 Aa	0,23 ± 0,02 Bb	0,13 ± 0,01 Aa	0,13 ± 0,01 Aa
70	0,12 ± 0,01 Aa	0,22 ± 0,01 Bb	0,10 ± 0,01 Aa	0,16 ± 0,01 Ca
80	0,12 ± 0,02 Aa	0,20 ± 0,02 Bb	0,13 ± 0,01 Aa	0,14 ± 0,01 Aa
90	0,14 ± 0,04 Aa	0,18 ± 0,01 Ab	0,15 ± 0,01 Aa	0,15 ± 0,02 Aa

*Teor inicial de ácidos clorogênicos presente na torta de sementes de girassol cedida gentilmente pela Caramuru Ltda: 2,42 ± 0,02 %.

Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Figura 15. Teor de ácidos clorogênicos presentes no óleo de sementes de girassol (%), em função da temperatura de processo

Fonte: Própria autoria

Como pode ser observado na Tabela 23, a temperatura empregada no processo de extração não exerce influência estatisticamente significativa na transferência de ácidos clorogênicos da matriz sólida para a fase extrato nas condições estudadas.

O solvente isopropanol mostrou-se significativamente indiferente quanto ao grau de hidratação para a extração de ácidos clorogênicos nas temperaturas de 60, 80 e 90 °C, apresentando valores próximos a 0,13 % do composto minoritário no óleo. Entretanto, quando empregada a temperatura de 70 °C, o isopropanol azeotrópico possibilitou extração de óleo com aproximadamente 0,16 % de ácidos clorogênicos totais.

Dentre todos os solventes utilizados, nota-se ao observar a Tabela 23 que o solvente etanol azeotrópico foi capaz de extrair maior quantidade de ácidos clorogênicos para a fase extrato quando comparado aos outros solventes. Pode-se

observar também que para esse solvente, a variável temperatura não apresentou influência estatisticamente significativa no processo de extração.

Diversos estudos relatam que a maior capacidade de extração de compostos fenólicos está ligada diretamente ao teor de água presente no solvente, ou seja, quanto maior for a hidratação, maior será a extração dos compostos fenólicos presentes na matéria prima inicial, como citado por Regitano-d'Arce (1991) e Smith e Johnsen (1948) (vide item 2.5).

Estudos de Rossi, Peri e Riva (1980) utilizando misturas de solventes e água em diferentes proporções, mostram que a presença da água é um fator determinante para a retirada dos ácidos clorogênicos do material sólido oleaginoso. Misturas azeotrópicas de etanol e água (95:5), razão massa:volume de sólido:solvente de 1:5, a 77 °C, proporcionaram a extração de 27 % dos ácidos clorogênicos da torta de sementes de girassol, enquanto os solventes isopropanol absoluto e isopropanol e água (90:10), razão massa:volume de sólido:solvente de 1:200, a temperatura ambiente, possibilitaram a extração de 9 e 32 % do composto fenólico do mesmo material sólido, respectivamente.

Segundo Moure et al. (2001), o tipo de solvente utilizado na extração para a retirada de compostos fenólicos é um parâmetro decisivo, tanto quantitativamente quanto qualitativamente. Os autores também frisam que o solvente utilizado no processo favorece ou não a obtenção de extratos com potenciais antioxidantes. O solvente amplamente utilizado para o isolamento de compostos fenólicos é a água e apresenta maior capacidade de extração de compostos fenólicos quando comparado com outros solventes como éter, etanol, metanol e acetona. Sua maior eficiência em extrair compostos fenólicos é atribuída a sua alta polaridade.

Análises de cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos graxos dos óleos provenientes das extrações em estágio simples também foram realizadas. Nas Tabelas 24 e 25 estão reportadas as composições em ácidos graxos dos óleos obtidos das extrações realizadas nas temperaturas de 60 e 90 °C, respectivamente.

A análise de cromatografia possui caráter decisivo, pois a partir dos resultados é possível avaliar a influência das variáveis do processo, tais como temperatura, tipo de solvente e grau de hidratação dos mesmos, na composição do óleo da torta de sementes de girassol.

A partir da análise estatística dos dados obtidos é possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa em relação a composição dos ácidos graxos presentes no óleo de torta de sementes de girassol extraído em relação aos dados reportados na literatura, relação ao óleo extraído industrialmente com hexano e em relação ao óleo extraído da matéria prima inicial pelo método de extração a frio sugerido por Bligh e Dyer (1959).

Entretanto, como citado por Grompone (2005), o processo de extração através do qual os óleos são obtidos pode afetar sua composição em relação a composição em ácidos graxos e, conseqüentemente, em relação a proporção de ácidos graxos insaturados e saturados. Essas diferenças ainda podem ser oriundas da origem da matéria prima, do tipo de solo e cultivo, do modo de plantio e até mesmo das posições das sementes distribuídas ao longo da planta.

Nas Tabelas 24 e 25 é possível observar que as composições dos óleos extraídos nas condições empregadas estão de acordo com os dados reportados por Firestone (2006). Sendo assim, os óleos extraídos neste presente trabalho apresentam composição típica de óleo de torta de sementes de girassol.

Os resultados obtidos neste trabalho também estão de acordo com os dados apresentados por Campos Leite et al. (2005). Independente do solvente e da temperatura utilizada no processo de extração são notadas apenas diferenças sutis nas composições em ácidos graxos.

Tabela 24. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na temperatura de 60 °C

Teor de água nos solventes		Etanol		Isopropanol		Óleo	Bligh Dyer ^b	Literatura ^c
alcoólicos (% em massa)		0	6	0	12	Caramuru ^a		
Palmítico	C16:0	6,2 ± 0,2 ab	6,6 ± 0,3 a	6,0 ± 0,5 ab	5,6 ± 0,2 b	5,68 ± 0,05 b	5,6 ± 0,1 b	5,0 – 8,0
Estearico	C18:0	2,50 ± 0,09 a	2,92 ± 0,01 ab	2,4 ± 0,5 a	2,9 ± 0,2 ab	4,6 ± 0,2 c	3,2 ± 0,3 b	2,5 – 7,0
Oleico	C18:1	25,69 ± 0,04 a	25,8 ± 0,2 a	23,5 ± 0,7 b	25,70 ± 0,08 a	22,3 ± 0,7 b	26 ± 1 a	13,0 - 40,0
Linoleico	C18:2	65,62 ± 0,02 a	64,7 ± 0,5 a	66 ± 2 a	64,17 ± 0,09 ab	67 ± 1 c	62,2 ± 0,7 b	48,0 – 74,0
Eicosapentanoico	C20:5	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,83 ± 0,04 a	1,57 ± 0,08 a	<i>nd</i>	1,2 ± 0,2 b	<i>nd</i>
MM média (g·mol ⁻¹)		279,47 ± 0,04 a	279,40 ± 0,02 a	279,74 ± 0,09 b	279,88 ± 0,08 b	279,60 ± 0,01 a	<i>Nd</i>	278 ± 1
Insat/sat		9,87 ± 0,08 a	8,9 ± 0,3 a	10 ± 1 a	10,1 ± 0,1 a	8,3 ± 0,2 a	8,81 ± 0,09 a	8,4 ± 0,2

^a Óleo de girassol bruto cedido pela Caramuru

^b Óleo extraído da torta de sementes de girassol pelo método de Bligh e Dyer (1959).

^c Firestone (2006).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

Tabela 25. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na temperatura de 90 °C

Teor de água nos solventes alcoólicos (% em massa)		Etanol		Isopropanol		Óleo	Bligh Dyer ^b	Literatura ^c % massa
		0	6	0	12	Caramuru ^a		
Palmítico	C16:0	5,56 ± 0,08 a	5,60 ± 0,09 a	5,64 ± 0,01 a	5,6 ± 0,1 a	5,68 ± 0,05 a	5,6 ± 0,1 a	5,0 – 8,0
Estearico	C18:0	2,9 ± 0,5 a	2,60 ± 0,07 a	3,0 ± 0,1 a	3,3 ± 0,3 a	4,6 ± 0,2 c	3,2 ± 0,3 a	2,5 – 7,0
Oleico	C18:1	26 ± 2 a	24,5 ± 0,3 a	25,6 ± 0,6 a	26,6 ± 0,9 a	22,3 ± 0,7 b	26 ± 1 a	13,0 - 40,0
Linoleico	C18:2	65 ± 2 ab	65,5 ± 0,5 a	63,9 ± 0,6 ab	62,7 ± 0,9 b	67 ± 1 c	62,2 ± 0,7 b	48,0 – 74,0
Eicosapentanoico	C20:5	1,4 ± 0,2 a	1,8 ± 0,9 a	1,30 ± 0,04 a	1,2 ± 0,2 a	<i>nd</i>	1,2 ± 0,2 a	<i>nd</i>
Lignocérico	C24:0	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,55 ± 0,01 b	0,62 ± 0,08 b	<i>nd</i>	0,4 ± 0,2 b	0 – 0,4
MM média (g·mol ⁻¹)		279,90 ± 0,04 a	281 ± 2 a	280,14 ± 0,01 a	280,20 ± 0,06 a	279,60 ± 0,01 a	280,5 ± 0,8 a	279 ± 1
Insat/sat		10,1 ± 0,6 ab	11 ± 1 a	9,5 ± 0,1 b	9,2 ± 0,2 b	8,3 ± 0,2 b	6,7 ± 0,4 b	8,4 ± 0,2

^a Óleo de girassol bruto cedido pela Caramuru

^b Óleo extraído da torta de sementes de girassol pelo método de Bligh e Dyer (1959).

^c Firestone (2006).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

5.4 Extração sequencial em correntes cruzadas

Esta etapa do trabalho foi realizada com o objetivo de verificar o desempenho dos quatro solventes na extração do óleo e dos ácidos clorogênicos disponíveis na torta de sementes de girassol, além da composição em ácidos graxos, teor de tocoferóis, de fosfolipídeos e estabilidade oxidativa do óleo extraído.

Neste trabalho foram realizados 4 experimentos de extração sequencial em três estágios, conforme demonstrado na Figura 8. Nestes experimentos, três estágios consecutivos foram realizados a partir de um mesmo farelo e sob as mesmas condições experimentais, utilizando etanol ou isopropanol, em grau absoluto e hidratado, somente na temperatura de 90 °C. Somente para o solvente etanol azeotrópico foi incorporado ao experimento de extração sequencial em correntes cruzadas um estágio adicional, o quarto estágio, uma vez que este solvente apresentou o menor valor de rendimento de extração em simples estágio. Neste caso foi avaliado o óleo residual no refinado oriundo dos 4 estágios de contato.

De fato, a temperatura de 90 °C foi selecionada uma vez que nesta foram obtidos os mais altos valores de rendimento de extração do óleo, conforme mostra a Figura 13. Em adição, o estudo da extração de ácidos clorogênicos, em um estágio, mostrou ser esta variável independente da temperatura de processo (vide Tabela 23).

As condições experimentais utilizadas nos experimentos de extração sequencial são apresentadas na Tabela 26.

Tabela 26. Condições experimentais empregadas nos experimentos de extração em correntes cruzadas, em três estágios

T (°C)	Teor de água no Solvente (% , em massa)	
90,0 ± 0,1	Etanol	1,1 ± 0,1
		6,5 ± 0,1
	Isopropanol	0,92 ± 0,08
		11,90 ± 0,05

Cada experimento resultou em três fases extrato:

- Extrato 1, proveniente do estágio 1;
- Extrato 2, proveniente do estágio 2;
- Extrato 3, proveniente do estágio 3.

Como previamente mencionado, os extratos 1, 2 e 3 foram reunidos e submetidos a rotaevaporação, sendo o óleo obtido desta operação submetido às caracterizações supramencionadas. O rendimento global da extração sequencial foi comparado com o rendimento em um estágio. Desta forma, na Figura 16 estão apresentados os resultados referentes aos rendimentos de extração de óleo calculados com base na análise de óleo residual na fase refinado (vide item 4.2.12). Os valores de rendimento de óleo referentes a extração em um estágio estão indicados como (E1) e os referentes a extração sequencial, em três estágios estão designados como (E3). No caso do etanol azeotrópico também está apresentado o resultado referente ao quarto estágio designado como E4.

Figura 16. Rendimento de extração de óleo, na temperatura de 90 °C, para os diferentes solventes, para diferentes estágios da extração sequencial

Fonte: Própria autoria

A Tabela 27 apresenta os valores de óleo residual nas fases refinado referentes aos diferentes solventes. Estes valores foram comparados estatisticamente entre os estágios, primeiro e terceiro estágios e os solventes utilizados, pelo Teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %. Como pode ser observado na Tabela 27, independente do solvente utilizado e o seu grau de hidratação, o rendimento de extração referente a E1 é inferior se comparado ao E3, em todas as condições empregadas.

Tabela 27. Teor de óleo residual (%) nas fases refinado provenientes dos diferentes estágios de extração

T (°C)	Teor de água nos solventes alcoólicos (%, em massa)	Óleo residual no R1 (%)	Óleo residual no R2 (%)	Óleo residual no R3 (%)	Óleo residual no R4 (%)	
90	Etanol	0	8,1 ± 0,1 Aa	-	0,08 ± 0,04 Ab	-
		6	12,5 ± 0,2 Ba	2,9 ± 0,2 b	0,69 ± 0,05 Bc	0,21 ± 0,01d
	Isopropanol	0	7,15 ± 0,07 Ca	-	0,082 ± 0,004 Ab	-
		12	9,2 ± 0,1 Da	-	0,78 ± 0,02 Bb	-

Médias seguidas por letra maiúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Duncan. Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Duncan.

Observando a Figura 16 e os dados da Tabela 27, pode-se notar que os solventes estudados apresentam diferenças significativas em relação ao teor de óleo residual presente na fase refinado oriunda do terceiro estágio (E3). Para os solventes etanol e isopropanol hidratado (6 % e 12 % de água, em massa, respectivamente), os teores de óleo residual apresentam-se significativamente iguais, próximos aos 0,7 %. Em relação aos solventes etanol e isopropanol em grau absoluto, os teores de óleo residual também se apresentam estatisticamente iguais tendo como consequência a mesma capacidade de extração do material lipídico quando empregados três estágios consecutivos.

Entretanto, quando apenas um estágio é empregado no processo de extração, pode-se observar que os resultados são diferentes. Nota-se na Tabela 27 (E1), que a escolha do solvente exerce influência significativa para um melhor rendimento de extração durante o processo. Nota-se também que os resultados apresentados nesta tabela são coerentes com aqueles reportados nessa presente dissertação de mestrado para o rendimento de material lipídico em extração em um estágio (vide Tabela 21), sendo que o solvente isopropanol em grau absoluto apresenta maior rendimento de extração.

Quando os valores de rendimento de extração em um estágio são comparados nota-se que o isopropanol absoluto possibilita obtenção de fase refinado com o menor teor de óleo residual, aproximadamente 7,2 %, extraíndo assim, maior quantidade de óleo da torta de sementes de girassol. O etanol absoluto apresenta valor aproximado de 8 %, isopropanol azeotrópico na faixa de 9 % e por fim, com pior desempenho de extração, o solvente etanol azeotrópico, que resulta em fase refinado com cerca de 12,5 % de óleo residual.

Para o etanol azeotrópico foi realizada a extração sequencial empregando 4 estágios consecutivos, pelo fato de que este solvente foi o que apresentou menor rendimento de extração dentre todos os empregados nas condições de processo avaliadas. Quando empregado um estágio adicional de extração, o teor de óleo residual na fase refinado foi de $0,21 \pm 0,01$ %, valor ainda superior aos obtidos para os solventes absolutos com uso de três estágios.

Os dados reportados por Capellini (2013) também evidenciam que o isopropanol absoluto foi o solvente que proporcionou maior extração do material lipídico do farelo de arroz quando empregada a temperatura de 80 °C, restando

aproximadamente $0,8 \pm 0,1$ % de óleo residual na fase refinado proveniente da extração sequencial em dois estágios.

Os resultados da autora também permitem inferir que o solvente com menor capacidade de extração é o etanol com 6 % de água, dado este que se assemelha com o presente trabalho. Capellini (2013) enfatiza que mesmo após duas extrações consecutivas, a fase refinado ainda apresentou cerca de 2,8 % de óleo residual, na temperatura de 80 °C.

Vale mencionar que Kemper (2005) sugere que o processo de extração com solventes só pode ser considerado eficiente se o material refinado apresentar um teor de óleo residual menor que 0,5 %. Sendo assim, observando os resultados das extrações sequenciais, pode-se inferir que o emprego de três estágios consecutivos para a extração de óleo da torta de sementes de girassol foi eficiente, resultando em valores de teor residual inferiores ao citado pela literatura, exceto para os solventes em grau azeotrópico, que mesmo após 3 estágios, ainda apresentaram teores aproximados de 0,69 e 0,78 % para etanol e isopropanol, respectivamente.

A composição em ácidos graxos dos óleos obtidos das extrações sequenciais em três estágios, na temperatura de 90 °C, também foi avaliada e estes resultados estão apresentados na Tabela 28.

Esta análise permitiu verificar que os contatos sucessivos entre a matriz sólida e solvente não exerceram influência sobre a composição em ácidos graxos do óleo de torta de sementes de girassol. Vale enfatizar que os efeitos da temperatura de extração, do tipo de solvente e grau de hidratação deste foram avaliados para a extração em um estágio (Tabelas 24 e 25).

A partir da análise estatística dos dados obtidos da extração em três estágios é possível observar que ocorreram sutis diferenças significativas em relação a composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol em relação ao óleo bruto de girassol extraído industrialmente das sementes, com o solvente hexano, pela empresa Caramuru. De fato, os óleos extraídos neste presente trabalho apresentam composição típica de óleo de torta de sementes de girassol, não sendo a composição afetada pelo número de contatos entre sólido oleaginoso e solvente, temperatura de processo, tipo e grau de hidratação do solvente alcoólico.

Tabela 28. Composição em ácidos graxos dos óleos de torta de sementes de girassol obtidos em diferentes condições experimentais, na condição de extração em três estágios, na temperatura de 90 °C

Teor de água nos solventes		Etanol		Isopropanol		Óleo	Literatura ^b
alcoólicos (% , em massa)		0	6	0	12	Caramuru ^a	% massa
Palmítico	C16:0	6,0 ± 0,2 a	5,82 ± 0,06 a	5,96 ± 0,05 a	5,84 ± 0,05 a	5,68 ± 0,05 a	5,0 – 8,0
Estearico	C18:0	3,62 ± 0,02 a	3,3 ± 0,5 a	3,7 ± 0,2 a	3,5 ± 0,1 a	4,6 ± 0,2 b	2,5 – 7,0
Oleico	C18:1	27,47 ± 0,08 a	27 ± 1 a	27,84 ± 0,09 a	27,3 ± 0,3 a	22,3 ± 0,7 b	13,0 - 40,0
Linoleico	C18:2	61,1 ± 0,2 a	63 ± 2 a	61,6 ± 0,3 a	61,5 ± 0,5 a	67 ± 1 b	48,0 – 74,0
Eicosapentanoico	C20:5	1,13 ± 0,05 ab	1,33 ± 0,08 a	1,00 ± 0,08 b	1,21 ± 0,02 ab	<i>Nd</i>	<i>nd</i>
Behênico	C22:0	0,70 ± 0,01 a	0,5 ± 0,1 a	<i>nd</i>	0,64 ± 0,02 a	<i>nd</i>	0 – 0,4
MM média (g·mol ⁻¹)		280,51 ± 0,04 a	280,13 ± 0,08 a	279,80 ± 0,04 b	280,17 ± 0,02 a	279,60 ± 0,01 b	279 ± 1
Insat/sat		8,81 ± 0,09 a	9,0 ± 0,6 a	8,91 ± 0,09 a	8,6 ± 0,2 a	8,3 ± 0,2 a	8,4 ± 0,2

^a Óleo de girassol bruto cedido pela Caramuru

^b Firestone (2006).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

A extração de ácidos clorogênicos da torta de sementes de girassol também foi estudada nessa etapa do trabalho, extração em correntes cruzadas em três estágios. A Figura 17 apresenta os teores de ácidos clorogênicos presentes no óleo de torta de sementes de girassol obtidos do processo de extração sequencial. Nesta figura também são apresentados os valores de ácidos clorogênicos de amostras de óleos bruto e refinado de sementes de girassol, para fins de comparação. A amostra de óleo bruto foi gentilmente cedida pela empresa Caramuru, sendo este óleo extraído na indústria utilizando hexano. Já o óleo refinado foi adquirido em mercado local (óleo Liza).

A Tabela 29 apresenta a análise estatística para os valores médios de ácidos clorogênicos nos óleos realizada através do Teste de Duncan, ao nível de 95 % de confiança.

Figura 17. Teor de ácidos clorogênicos nos óleos obtidos das extrações sequenciais em três estágios com solventes alcoólicos, a 90 °C, e nos óleos bruto e refinado, obtidos industrialmente com solvente hexano

Fonte: Própria autoria

Tabela 29. Teor de ácidos clorogênicos nos óleos obtidos das extrações sequenciais em três estágios, a 90 °C, com solventes alcoólicos e nos óleos bruto e refinado, obtidos industrialmente com solvente hexano

	Etanol		Isopropanol		Óleo bruto Caramuru	Óleo refinado Lisa
Teor de ácidos clorogênicos no óleo (%)	0	6	0	12		
	0,20 ± 0,01 a	0,32 ± 0,01b	0,20 ± 0,01 a	0,20 ± 0,01 a	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 c

Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Duncan.

Observando os dados apresentados na Tabela 29, pode-se notar que os teores de ácidos clorogênicos extraídos nos óleos obtidos das extrações sequenciais são dependentes da hidratação do solvente, como no caso do etanol azeotrópico (6 % de água, em massa) que possibilitou a extração de óleo de girassol com aproximadamente 0,32 % de ACG. Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados nessa presente dissertação de mestrado referentes aos óleos obtidos das extrações em um estágio (vide Tabela 23). De fato, é possível inferir que o solvente etanol hidratado possibilitou maior extração do composto fenólico.

No que diz respeito aos resultados referentes aos óleos obtidos das extrações com os solventes etanol absoluto e isopropanol, graus absoluto e azeotrópico, pode-se observar que estes solventes resultaram em teores de ácidos clorogênicos estatisticamente iguais.

O óleo bruto proveniente da extração com hexano, e do óleo refinado comercial Lisa apresentam estatisticamente o mesmo percentual de ACG. Os teores encontrados para o óleo bruto e para o óleo refinado são estatisticamente menores se comparados aos óleos extraídos com solventes alcoólicos e estes, por sua vez, inferiores ao teor de ACG encontrado no óleo proveniente da extração com etanol azeotrópico (6 % de água, em massa).

Para os experimentos de extração em correntes cruzadas, em três estágios, os teores de ácidos clorogênicos residuais nas fases refinado foram também determinados experimentalmente. Para isto, o procedimento descrito no item 4.2.3 foi adotado, ou seja, cada fase refinado obtida das extrações sequenciais com os diferentes solventes, etanol e isopropanol, absoluto e azeotrópico, a 90 °C foi submetida a extrações sequenciais com solução metanólica, conforme sugerido por González-Perez et al. (2002).

A Tabela 30 apresenta os teores residuais de ácidos clorogênicos nas fases refinado bem como os valores dos rendimentos de extração de ácidos clorogênicos.

Tabela 30. Teor de ACG residual na fase refinado e rendimento total de extração de ácidos clorogênicos para a fase extrato

Temperatura (°C)	Teor de água nos solventes alcoólicos (% em massa)	Teor de ACG residual nas fases refinado 3 (%)	Rendimento total de extração de ACG (%)
90	Etanol	0	59,10
		6	76,04
	Isopropanol	0	21,92
		12	66,03

Ao analisar os dados apresentados na Tabela 30 pode-se notar que o rendimento de extração de ácidos clorogênicos apresentou variações conforme o solvente utilizado no processo de extração. O rendimento de extração de ACG variou de 22 a 76 %, aproximadamente.

Os resultados apresentados na Tabela 30 estão de acordo com os dados da literatura, onde vários autores enfatizam que a hidratação do solvente é fator determinante para uma maior extração de compostos fenólicos, uma vez que estes possuem afinidade por solventes mais polares. No presente trabalho nota-se que os maiores rendimentos de extração de ACG foram obtidos quando os solventes etanol e isopropanol hidratados (6 % de água em massa e 12 % de água em massa, respectivamente) foram utilizados.

Rossi, Peri e Riva (1980) realizaram estudo de extração de ácidos clorogênicos da torta de sementes de girassol através da combinação de diferentes solventes. Neste estudo, quando utilizado o solvente etanol:água, na proporção de 95:5, os autores relataram rendimento de extração próximo aos 27 %, percentual inferior se comparado aos resultados apresentados nesse presente trabalho utilizando o etanol azeotrópico como solvente de extração. Os autores também avaliaram o isopropanol como possível solvente de extração para os ACG. Utilizando uma mistura do álcool e água (80:20, respectivamente), os autores obtiveram rendimento de 32 % do composto fenólico. Os autores inferem que a extração de ácidos clorogênicos é influenciada pelas condições de processo, tais como

condicionamento do material sólido a ser submetido a extração, temperatura e tempo de extração, pH do meio, entre outros fatores.

Rendimento de extração de ACG também foi estudado por Regitano-d'Arce (1991) que ao extrair óleo de sementes de girassol que continha inicialmente aproximadamente 6,91 % de ácidos clorogênicos, conseguiu recuperar 1,16 % do composto fenólico e, conseqüentemente, obter um rendimento de extração próximo aos 17 % utilizando etanol com 10 % de água, na temperatura de 70 °C.

Ao calcular o rendimento de extração dos ácidos clorogênicos nesta presente dissertação de mestrado, através de cálculos de balanço de massa pode-se observar que durante o processo de extração, ocorreu perda de massa do composto ácido clorogênico uma vez que somente uma parte de ácido clorogênico retirado do material sólido pelo solvente foi detectado no óleo (vide Tabelas 29 e 30).

Perdas de ácidos clorogênicos ocasionadas por diferentes fatores são relatadas na literatura. Amorim (1973) comparando métodos de determinação de ácidos clorogênicos em grãos de café infere que a temperatura de secagem do grão (100 °C), na etapa de determinação da umidade, rompe os isômeros dos ácidos clorogênicos, dificultando assim, a mensuração e a extração destes compostos.

Amorim (1973) também relata que comparando dois métodos de extração de ácidos clorogênicos, um utilizando água em temperatura ambiente, e o outro utilizando água fervente, ambos os métodos apresentam falhas na quantificação precisa do composto fenólico. O autor infere que o uso da água em temperatura ambiente possibilita a extração do complexo enzimático da polifenol oxidase, que é facilmente oxidada com os ácidos clorogênicos, e causa modificações no comprimento de onda utilizado para quantificar sua presença, que geralmente apresenta absorvância em 324 nm. Porém, a extração aquosa a quente pode levar a erros de determinação quantitativa, pelo fato de que os ácidos clorogênicos quando aquecidos em meio aquoso sofrem rupturas em seus isômeros.

Nogueira e Trugo (2003) realizaram estudo comparativo entre diversos grãos de café para determinação do perfil e distribuição de isômeros dos ácidos clorogênicos, trigonelina e da cafeína. Os autores observaram que amostras obtidas a partir de grãos que sofreram um processo de torrefação mais drástico, sob temperaturas mais elevadas, apresentaram menor teor de ácidos clorogênicos, enfatizando assim a labilidade deste composto frente ao tratamento térmico.

Os comentários descritos acima também estão de acordo com trabalhos de Menezes (1994) e Mendonça et al. (2005). Ambos citam que durante o processo de torrefação (100 °C a 180 °C), ou qualquer outro processo que empregue alta temperatura, os compostos fenólicos, dentre eles os ácidos clorogênicos, são gradualmente decompostos e quebrados em ácido cafeico e quínico.

Não apenas o processamento térmico, mas também as formas de congelamento favorecem o rompimento dos isômeros dos ácidos fenólicos. Por exemplo, durante um processo as condições de tempo e temperatura aplicada podem romper as ligações entre os compostos fenólicos e as moléculas ligadas a eles, conferindo a estes compostos menor capacidade antioxidante (NARDINI et al., 2002; MANACH et al., 2004).

A determinação do teor de tocoferóis nos óleos extraídos com os solventes alcoólicos também foi objetivo de estudo neste presente trabalho. Os óleos provenientes das extrações sequenciais em três estágios consecutivos foram analisados pela metodologia proposta por Ansolin et al. (2015) no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio da FEA – UNICAMP.

Na Tabela 31 estão apresentados os teores de tocoferóis presentes nas amostras de óleos obtidos com os solventes alcoólicos através das extrações sequenciais e, também, os teores presentes no óleo bruto extraído industrialmente com hexano e no óleo refinado comercial. Estes valores foram submetidos a análise estatística pelo teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 31. Teores de tocoferóis e tocotrienóis presentes nos óleos obtidos utilizando solventes alcoólicos, a 90 °C, óleo bruto e óleo refinado comercial

	Etanol		Isopropanol		Óleo bruto Caramuru	Óleo refinado Lisa
	0	6	0	12		
Teor de Alfa (α) tocoferol mg/kg	100,4 $\pm$ 0,7 a	59,4 $\pm$ 0,2 b	111,1 $\pm$ 0,9 a	110 $\pm$ 1 a	658 $\pm$ 4 d	621 $\pm$ 8 e
Teor de Gamma + Beta ($\gamma + \beta$) tocoferol mg/kg	13,5 $\pm$ 0,2 a	15,2 $\pm$ 0,2 b	16,7 $\pm$ 0,3 c	15,8 $\pm$ 0,3 bc	43,2 $\pm$ 0,6 d	45,8 $\pm$ 0,5 d
Teor de Delta (δ) Tocoferol mg/kg	nd	nd	nd	nd	2,93 $\pm$ 0,05 a	4,73 $\pm$ 0,07 b
Teor de Gamma (γ) Tocotrienol	nd	nd	nd	nd	nd	30,7 $\pm$ 0,5 a

Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Duncan.

*nd= não detectado

Como pode ser observado na Tabela 31, quando analisado o tocoferol da classe alfa (α), pode-se inferir que os solventes isopropanol (absoluto ou hidratado) e etanol absoluto (0 % de água, em massa), possibilitaram extrações estatisticamente iguais, próximos aos 110 mg/kg.

Quando analisados os tocoferóis das classes gama (γ) + beta (β), pode-se notar que os óleos extraídos com etanol hidratado (6 % de água, em massa), isopropanol absoluto e hidratado (12 % de água, em massa) apresentaram estatisticamente o mesmo valor de compostos extraídos, aproximadamente 16 mg/kg. Entretanto, o óleo proveniente da extração com etanol absoluto, apresentou valor estatisticamente menor comparado aos outros, 13 mg/kg aproximadamente.

Também foram avaliados os teores de tocoferóis e tocotrienóis do óleo bruto de girassol e do óleo refinado comercial Lisa. Como apresentado na Tabela 31, pode-se observar que ambos os óleos apresentaram teores de tocoferol da classe alfa e (gama + beta) estatisticamente maiores do que os óleos extraídos com os solventes alcoólicos. Pode-se observar também, que nos óleos obtidos com o extratante hexano foi também detectado o tocoferol da classe delta e o tocotrienol da classe gama, fato este que pode estar associado a polaridade dos solventes comparados (etanol e isopropanol versus hexano).

Abidi e Mounts (1994) reportam que a polaridade dos isômeros de tocoferóis está diretamente relacionada a diminuição do número de grupos metil como substituintes nas moléculas. Os autores sugerem que, em termos de polaridade o γ -tocoferol $> \beta > \alpha$ tocoferol. Este comportamento pode justificar os teores mais elevados de tocoferóis, independentemente da forma isomérica, nos óleos bruto e refinado, ambos obtidos com hexano. Esta ordem de polaridades também explica o menor teor de α tocoferol no óleo extraído via etanol azeotrópico. A Figura 18 apresenta as estruturas químicas dos tocoferóis e tocotrienóis.

Figura 18. Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis

Fonte: Cerqueira et al., 2007.

Segundo Ramalho e Jorge (2006), o tocoferol pode ser um dos melhores antioxidantes naturais encontrados, e é amplamente aplicado em produtos alimentícios a fim de inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos. Os tocoferóis podem estar presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, e podem se apresentar em 4 classes segundo a localização dos grupos metila no anel: α, β, γ e δ. A atividade antioxidante dos tocoferóis é dada pela capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação de oxidação em cadeia.

Estes componentes são importantes antioxidantes naturais que evitam o ranço durante o armazenamento dos óleos, possibilitando assim, o aumento da vida de prateleira dos óleos comestíveis (TASAN et al., 2011).

O fenômeno de oxidação dos lipídeos depende de mecanismos diversos e extremamente complexos, como já citado anteriormente (RAMALHO e JORGE, 2006). O tipo de estrutura lipídica, a natureza das insaturações, a exposição à luz e ao calor e a presença de pró-oxidantes, são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídeos. Sendo assim, visando apenas a número de duplas ligações presentes na molécula, seria de se esperar que os óleos vegetais apresentassem maior susceptibilidade à deterioração que a gorduras animais.

Porém, a quantidade de antioxidantes naturais (tocoferóis) presentes em óleos vegetais, faz com que a oxidação ocorra mais lentamente (SILVA et al., 1999).

Corsini e Jorge (2006) avaliaram as alterações oxidativas produzidas nos óleos de algodão, girassol e palma durante o processo de fritura. Os resultados obtidos em relação a estabilidade oxidativa indicaram que, dentre os óleos avaliados, o óleo de palma, por conter mais ácidos graxos saturados, apresentou ao longo do processo de fritura, maior estabilidade oxidativa. Entretanto, esperava-se que o óleo de algodão apresentasse mais resistência a oxidação do que o óleo de girassol, também pelo número de ligações duplas apresentadas. No entanto, os resultados inferem que a perda da estabilidade oxidativa ocorreu em menor proporção para o óleo de girassol, cujos valores mantiveram-se praticamente constantes, provavelmente devido à presença de maiores quantidades de tocoferol.

Márquez-Ruiz et al. (2008) avaliaram a evolução da estabilidade oxidativa através do equipamento Rancimat utilizando o óleo de girassol com diferentes graus de insaturação e azeite de oliva virgem. Os óleos de girassol foram testados na temperatura de 100 °C, e o azeite nas temperaturas de 100, 110 e 120 °C, sendo avaliados em diferentes momentos e valores de condutividade até que o período de indução (PI) fosse ultrapassado. Os autores sugerem que o fim do PI foi marcado pelo início da polimerização após o esgotamento dos tocoferóis. Observando os resultados obtidos por Márquez- Ruiz et al. (2008), pode-se observar também que o óleo de girassol em tempo zero (ou seja, antes de passar pelo equipamento Rancimat) apresentou teor de tocoferóis de classe alfa bem superior aos resultados determinados neste presente trabalho para os óleos obtidos via extração alcóolica, porém concordante com os valores determinados nos óleos bruto e refinado, aproximadamente 630 mg/kg. Também foi possível observar que quando o período de indução ultrapassava a 6 horas, não era possível a mensuração dos tocoferóis na amostra.

Dados de tocoferóis (classes alfa e gama), também foram reportados por Grompone (2005). O autor cita que o valor biológico dos tocoferóis difere de acordo com seus isômeros, e que sua importância está associada com a vitamina E, atuando como antioxidantes, prevenindo a oxidação e peroxidação lipídica. Grompone (2005) infere também que o teor de tocoferóis presentes em óleos de girassol da classe alfa, pode variar de 403 - 935 mg/kg, e os tocoferóis da classe gama de 0 - 34 mg/kg, valores estes condizentes com o presente trabalho apenas

para os tocoferóis de classe gama, no que diz respeito aos óleos obtidos via extração alcoólica. A propriedade antioxidante das classes de tocoferóis é apresentada da seguinte maneira: alfa > beta > gama > delta, sendo que a classe alfa possui maior atividade antioxidante comparado à classe gama.

Como citado anteriormente, os tocoferóis se apresentam como um eficiente inibidor da peroxidação lipídica, doando seus H^+ para o radical peroxila, interrompendo assim a reação em cadeia. Segundo Barreiros e David (2006) os estudos *in vitro* demonstram que o tocoferol da classe α possui uma velocidade maior para a transferência de hidrogênios ao radical hidroxila desempenhando, assim, maior atividade antioxidante.

Entretanto, Tasan e Demirci (2005) inferem que os tocoferóis da classe γ e δ têm mostrado maior eficiência antioxidante do que as outras classes de tocoferóis em óleos vegetais. Os autores também inferem que etapas do processo de refino de óleos vegetais, tal como a desodorização, resultam na perda de tocoferóis e outros compostos fenólicos.

Tasan et al. (2011) avaliaram os métodos de prensagem, extração por solvente, prensagem a quente e pré-prensagem associada a extração com solvente na obtenção de óleo de girassol. Foram avaliados os teores de ácidos graxos livres, índice de peróxidos, cor, teor de ferro, fósforo, tocoferóis e estabilidade oxidativa nos óleos obtidos dos diferentes métodos. Como resultado, os autores inferem que os teores de tocoferóis das classes alfa e gama apresentaram-se estatisticamente maiores para os óleos obtidos através do processo de prensagem e, quando avaliada a estabilidade oxidativa, os autores observaram que não houve diferenças significativas entre os métodos de extração.

Levando em consideração a possível capacidade antioxidante dos ácidos clorogênicos e dos tocoferóis presentes nos óleos obtidos neste trabalho, a estabilidade oxidativa dos mesmos também foi objetivo de estudo.

Como comentado anteriormente, a perda da estabilidade oxidativa dos óleos se deve às reações de oxidação dos lipídeos, nas quais o oxigênio atmosférico reage com os ácidos graxos insaturados, resultando em produtos sensorialmente inaceitáveis (CORSINI e JORGE, 2006). De fato, a oxidação lipídica além de desenvolver sensorialmente o “ranço”, diminui o tempo de vida de prateleira e o valor nutritivo dos alimentos (SILVA et al., 1999).

Todavia, os métodos de determinação de estabilidade acelerada, como o utilizado no equipamento Rancimat, apresentam confiabilidade restrita, uma vez que a amostra é submetida ao aquecimento, a luz, ou ao contato com metais, fatores que modificam o mecanismo de oxidação. Portanto, os resultados obtidos sofrem desvios dos valores reais, pois o comportamento do óleo frente a essas condições será diferente das condições normais de estocagem (FERRARI e SOUZA, 2009).

Vale ressaltar que antes da avaliação da estabilidade oxidativa, as amostras dos óleos foram submetidas à secagem em estufa à vácuo (600 mmHg, em temperatura de 40 °C) para assegurar que todo o solvente (álcool e água) possivelmente presente na amostra fosse evaporado. Segundo Silva et al. (1999), a presença de água pode afetar a estabilidade oxidativa do óleo, favorecendo a reação de oxidação enzimática e mobilização de metais de transição pró-oxidantes, o que prejudicaria a confiabilidade dos resultados.

Na Tabela 32 estão apresentadas as médias dos valores de tempo de indução obtidos a partir do equipamento Rancimat os quais foram submetidos a análise estatística pelo teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 32. Tempo de indução (h) fornecido pelo equipamento Rancimat para os óleos extraídos nas diferentes condições experimentais

Etanol		Isopropanol		Óleo Bruto Caramuru ^a	Óleo refinado comercial Liza
0	6	0	12		
9 ± 2 a	7,0 ± 0,8 a	3,8 ± 0,5 b	5,31 ± 0,02 c	5,84 ± 0,04 c	4,75 ± 0,05 bc

Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

^a Óleo bruto Carumuru foi obtido por extração industrial com hexano.

Ao observar os dados apresentados na Tabela 32 pode-se notar que o tempo de indução foi estatisticamente igual para as amostras extraídas com o etanol, sendo ele em grau absoluto (0 % de água, em massa) ou hidratado (6 % de água, em massa). Para as demais amostras extraídas com isopropanol absoluto (0 % de água, em massa) e hidratado (12 % de água, em massa), os tempos de indução encontrados foram estatisticamente iguais aos encontrados para o óleo bruto “Caramuru” e para o óleo refinado comercial “Lisa”.

Valores próximos aos encontrados nesta dissertação de mestrado são reportados na literatura. Ferrari e Souza (2009) com o objetivo de produzir biodiesel etílico a partir do óleo de girassol encontraram valores de tempo de indução para o óleo de girassol obtido por prensagem das sementes de 4,47 h, período de indução estatisticamente compatível com os resultados deste trabalho, exceto para o óleo obtido quando etanol, absoluto ou hidratado foram utilizados como solventes.

Farag et al. (2003) estudaram a eficácia de compostos fenólicos extraídos de plantas de oliveira adicionados ao óleo de girassol para retardar o processo de oxidação, utilizando o equipamento Rancimat. Os autores também reportaram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, sendo que o óleo de girassol controle (sem adição do composto fenólico) apresentou tempo de indução aproximado de 7 h, período estatisticamente próximo aos encontrados para os óleos obtidos com etanol, absoluto e azeotrópico. Os autores também reportaram um tempo de indução próximo à 10 h para os óleos nos quais foram acrescentados de 100 a 200 mg/kg de compostos fenólicos. Em linhas gerais, pode-se inferir que o tempo de indução do óleo modificado com concentrações de compostos fenólicos está próximo ao óleo extraído com etanol absoluto deste trabalho (aproximadamente 9 h).

Estudo avaliando os métodos industriais para a extração de óleo de sementes oleaginosas de girassol foram realizados por Tasan et al. (2011). Os autores observaram que o óleo obtido somente pela prensagem das sementes apresentou tempo de indução inferior ao óleo obtido pelo método combinado de prensagem e emprego de solvente (hexano), com períodos de indução aproximados de 1,84 h e 2,30 h respectivamente.

Brevedan et al. (2000) avaliando a influência dos diferentes tipos de processamentos em óleos de girassol, inferem que o óleo obtido pela extração com

hexano apresenta maior estabilidade oxidativa quando comparado ao óleo obtido somente por prensagem mecânica.

Tais estudos indicando que a utilização de solventes no processo de obtenção de óleos vegetais proporciona a obtenção de óleos com maior estabilidade oxidativa estão de acordo com vários outros estudos relatados pela literatura. Vários autores como Tir et al. (2012), Johnson e Lusas (1983), Leal et al. (2010), Wan e Wakelyn (2006), Harris e Hayward (1950), entre outros, enfatizam que o emprego de solventes no processo de extração, além de proporcionar altos rendimentos de material lipídico, também proporciona maior capacidade de extração de compostos fenólicos e antioxidantes.

Com relação ao tempo de indução para avaliação da estabilidade oxidativa, Raemy et al. (1987) inferem que a temperatura utilizada para a obtenção da amostra é inversamente proporcional ao período de indução, ou seja, quanto maior for a temperatura utilizada durante o processo de extração, menor será o período de indução da amostra. Essa informação pode estar relacionada ao fato de que altas temperaturas podem levar a quebra de isômeros de compostos fenólicos que desempenham ação antioxidante no óleo, acelerando assim sua oxidação.

Dentre as amostras estudadas nessa presente dissertação de mestrado, é possível observar que os óleos extraídos com etanol absoluto e hidratado foram os que apresentaram maior tempo de indução, como previamente observado. No entanto, não é possível correlacionar o tempo de indução com o teor de compostos minoritários, tocoferóis e ácidos clorogênicos. De fato, como apresentado na Tabela 29, o etanol azeotrópico foi o solvente que proporcionou a obtenção de óleo com maior teor de ácidos clorogênicos, no entanto, o teor de ACGs no óleo obtido com etanol absoluto foi estatisticamente igual aos teores referentes aos óleos obtidos com isopropanol. Em relação aos tocoferóis, como já relatado, os maiores teores são referentes aos solventes isopropanol absoluto e azeotrópico.

Outro fator que pode implicar na estabilidade oxidativa do óleo é o teor de fosfolipídios. Na Tabela 33 estão apresentados os valores médios dos teores de fósforo e fosfolipídeos (mg/kg), os quais foram submetidos a análise estatística pelo teste de Duncan ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 33. Teor de fósforo e fosfolipídeos para os óleos obtidos via extração alcoólica, a 90 °C, e óleos bruto e refinado

	Etanol		Isopropanol		Óleo Bruto Caramuru ^a	Óleo refinado comercial Liza
	0	6	0	12		
Teor de Fósforo (mg/kg)	203 ± 4 a	301 ± 9 b	166 ± 5 c	189 ± 6 d	52 ± 4 e	< L.Q
Teor de Fosfolipídeos (mg/kg)	6093 ± 126 a	9.040 ± 282 b	4966 ± 161 c	5669 ± 173 d	1564 ± 133 e	< L.Q

Médias seguidas por letra minúscula iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Duncan.

^a Óleo bruto Carumuru obtido por extração industrial com hexano.

< L.Q = abaixo do limite de quantificação

Limite de detecção: 8,80 mg/kg

Limite de quantificação: 29 mg/kg

Como pode ser observado na Tabela 33, os óleos obtidos pela extração com solventes alcoólicos apresentaram estatisticamente maior teor de fósforo e fosfolipídeos quando comparados aos óleos obtidos por processos industriais utilizando o hexano como solvente. Também pode-se notar que os óleos obtidos com o solvente etanol (em grau absoluto e hidratado), apresentaram maior teor de fósforo e fosfolipídeos, quando comparados as amostras extraídas com o solvente isopropanol (em grau absoluto e hidratado).

Tais observações podem ajudar a justificar a estabilidade oxidativa das amostras de óleo, sendo que os tempos de indução apresentados pelas amostras extraídas com o solvente etanol foram estatisticamente maiores quando comparados as amostras extraídas com o isopropanol, sugerindo assim que a presença de fosfolipídeos nos óleos apresenta caráter benéfico para a estabilidade do mesmo. Quando observado o teor de fósforo e fosfolipídeos do óleo comercial Lisa, o resultado observado foi abaixo do limite de quantificação, porém a estabilidade do óleo apresentada foi significativamente válida quando comparado aos valores apresentados na literatura. Neste caso, vale ressaltar que os óleos comerciais podem sofrer, na indústria, adição de antioxidantes sintéticos para aumentar o tempo de vida de prateleira.

Grompone (2005) infere que os óleos extraídos por solventes geralmente possuem teores de fosfolipídios maiores em relação aos óleos obtidos por prensagem. O teor deste componente no óleo bruto de girassol pode variar de 0,5 a 1,2 % (5000 a 12.000 mg/kg), e seus principais fosfolipídios são fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol e ácido fosfatídico.

Santos (2007) avaliando a estabilidade oxidativa de óleo de soja entre os estágios de refino, observou uma ordem decrescente em relação a peroxidação lipídica, sendo o óleo mais estável o bruto, seguido pelo degomado, branqueado e neutralizado, e assim sucessivamente. O autor também infere que o processo de refino diminui a estabilidade oxidativa dos óleos em função das perdas de seus componentes em cada estágio, como fosfolipídeos, ácidos graxos livres, entre outros.

Crapiste et al. (1999) também observaram o mesmo comportamento avaliando óleos de girassol bruto e degomado provenientes da extração com hexano e prensagem a frio. Os autores avaliaram a influência da composição, temperatura e armazenamento perante a estabilidade oxidativa e inferem que os óleos obtidos por

extração com solvente apresentaram menor taxa de oxidação comparada ao óleo proveniente de prensagem. Apesar de ambos os óleos apresentarem a mesma composição em ácidos graxos e o mesmo teor de tocoferóis naturais, a extração com solvente possibilitou uma maior extração de fosfolipídios, fato este que os autores correlacionaram com a maior estabilidade.

Na dissertação de mestrado de Capellini (2013), a autora determinou o teor de fosfolipídeos em óleos de farelo de arroz obtidos com etanol e isopropanol, em graus absoluto e hidratado. Foi observado que o etanol azeotrópico possibilitou a extração de óleo com maior teor de fosfolipídeos, fato este também observado nesta presente dissertação. Entretanto, para os solventes etanol absoluto e isopropanol (absoluto e azeotrópico), ambos possibilitaram a extração de óleos com teores de fósforo estatisticamente iguais.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos para os experimentos de extração sólido-líquido em um estágio utilizando etanol e isopropanol como solventes, pode-se inferir que a hidratação do solvente está diretamente relacionada ao índice de retenção e a extração do material lipídico. A hidratação dos solventes etanol e isopropanol (6 % de água e 12 % de água em massa, respectivamente) influencia de forma negativa o processo de extração de óleo da matéria-prima. Entretanto, o aumento da temperatura ocasiona maior rendimento de extração, sendo a condição ótima nas temperaturas de 80 e 90 °C utilizando como solvente o isopropanol absoluto.

Com relação ao conteúdo de proteínas na fase refinado, este se mostrou dependente do processo de extração de óleo do material sólido, sendo que quanto maior a quantidade de óleo extraída, maior o teor de proteínas na fase refinado.

O grau de hidratação do solvente desempenhou papel fundamental na extração de ácidos clorogênicos do material sólido para o óleo, sendo o etanol azeotrópico o solvente que proporcionou maior capacidade de extração destes compostos fenólicos. Por outro lado, para a extração deste tipo de composto fenólico, a variável temperatura não exerceu influência estatisticamente significativa para nenhum dos solventes estudados.

Extrações sequenciais em três estágios na temperatura de 90 °C foram realizadas a fim de avaliar o teor de óleo residual, extração de ácidos clorogênicos, teor de tocoferóis, teor de fosfolipídeos e composição em ácidos graxos dos óleos obtidos, além da avaliação da estabilidade oxidativa destes. O grau de hidratação dos solventes impactou o processo de extração de material lipídico durante a extração sequencial em três estágios resultando assim, menor teor de óleo residual para os solventes absolutos, e maior teor para os solventes hidratados. A presença de água nos solventes também influenciou a extração dos ácidos clorogênicos quando empregada extração em três estágios, sendo o etanol hidratado o solvente mais eficaz na extração destes compostos. Em contrapartida, o etanol azeotrópico possibilitou a obtenção de óleo com o menor teor de α tocoferol enquanto os teores de α e $(\gamma + \beta)$ - tocoferol para os óleos obtidos com etanol absoluto e isopropanol

(absoluto e azeotrópico) foram similares e inferiores aos teores detectados nos óleos extraídos com hexano.

Quando avaliada a estabilidade oxidativa, os óleos extraídos com o solvente etanol, absoluto e hidratado, apresentaram estatisticamente o mesmo período de indução, resultado este que não mostrou correlação com os teores de ácidos clorogênicos ou tocoferóis presentes nos óleos. Porém, os teores de fósforo detectados nestes óleos nos permitem inferir que este composto minoritário desempenha papel protetor ao óleo, auxiliando na maior estabilidade oxidativa.

De acordo com os resultados apresentados nesta dissertação, pode-se inferir que a substituição do hexano pelos solventes etanol e isopropanol é tecnicamente viável no processo de extração de óleos vegetais. Nota-se também que a transferência dos ácidos clorogênicos para óleo pode ser viável utilizando solventes hidratados, mais especificamente quando utilizado etanol hidratado com 6 % de água, em massa, possibilitando assim a obtenção de um farelo desengordurado com menor quantidade de ácidos clorogênicos para a posterior utilização na indústria de alimentos.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se para trabalhos futuros que a temperatura de processo empregada na extração sequencial em três estágios seja menor do que a temperatura utilizada no presente trabalho (90 °C), a fim de evitar uma possível degradação térmica dos ácidos clorogênicos.

8. REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official methods of analysis**. 18th ed. Washington, D. C.: A.O.A.C., 2007. 1051 p.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 3rd ed. Champaign: Press, 1998. v.1-2
- ABDALLA, A. E.; ROOZEN, J. P. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. **Food Chemistry**, London, v. 64, p. 323-329, 1999.
- ABIDI, S. L.; MOUNTS, T. L. Separations of tocopherols and methylated tocols on cyclodextrin-bonded silica. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 670, p. 65-75, 1994.
- AGUIAR, R. H. **Avaliação do girassol durante o armazenamento, para uso como semente ou para extração de óleo**. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrícola)-Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 63p. Campinas, 2001.
- AKERLÖF, G. Dielectric constants of some organic solvent-water mixtures at various temperatures. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 54, n. 11, p. 4125-4139, 1932.
- AMAKURA, Y. et al. Isolation of phenolic constituents and characterization of antioxidant markers from sunflower (*Helianthus annuus*) seed extract. **Phytochemistry Letters**, Amsterdam, v. 6, p. 302-305, 2013.
- AMORIM, H. V. **Relação entre alguns compostos orgânicos do grão do café verde com a qualidade da bebida**. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, 1973.
- ANGELINI, A. C. et al. **Girassol**. Anvisa: Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Consulta pública nº85, 13 de dezembro de 2004.
- ANSOLIN, A. et al. Analytical methodology for quantification of vitamin E by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry in vegetable oils. **Food Chemistry**, artigo submetido, 2015.
- ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.

BAKER, E. C.; SULIVAN, D. A. Developmet of a pilot-plant process for the extraction of soy flakes with aqueous isopropyl alcohol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 60, n. 7, p. 1271-1276, 1983.

BARREIROS, A. L. B. S. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERNAUD, F. S.; FUNCHAL, C. D. Antioxidant activity of açaí. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 5, p. 310-316, 2011.

BERWANGER, E. **Torta de girassol na alimentação de frango de corte**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.

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

BRAND- WILLIAMS, W. M. E.; BERSET, C. C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel –Wissenschaft & Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BREVEDAN, M. I. V.; CARELLI, A. A.; CRAPISTE, G. H. Changes in Composition and Quality of Sunflower Oils During Extraction and Degumming. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 51, p. 417-423, 2000.

BURNS, E. E., TALLEY, L. J; BRUMETT, B. J. Sunflower utilization in human foods. **Cereal Science Today**, Minneapolis, v. 17, n. 9, p. 287-289, 1972.

CAMPOS LEITE, R. M., BRIGHENTI, A. M., CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

CAPELLINI, M. C. **Extração de Óleo de Farelo de Arroz utilizando Solventes Alcoólicos: Avaliação de Alterações na Fração Proteica e na Composição do Óleo**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, 2013.

CARELLI, A. A.; BREVEDAN, M. I. V.; CRAPISTE, G. H. Quantitative Determination of Phospholipids in Sunflower Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 74, p. 511-514, 1997.

CARELLI, A. A. et al. Wax Composition of Sunflower Seed Oils. **Ibid**, v. 79, p. 763-768, 2002.

CASTRO, C.; CASTIGLIONE, V. B. R.; BALLA, A. **Cultura de girassol: tecnologia de produção**. 2.ed. Londrina: Embrapa CNPS, 1997. v.67.

CASTRO, R. J. S.; PINTO, G. A. S. Estudo comparativo da produção de proteases por *Aspergillus oryzae* em fermentação semi-sólida utilizando tortas de girassol. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 17., 2009, Natal. **Anais...** Natal/RN, 2009.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n.2, p. 441-449, 2007.

CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Ficha de informação de produto químico – Álcool etílico**. Disponível em: http://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp/consulta/alcooletilico. Acesso em: 11 dez. 2014

CHIEN, J. T. et al. Oil extraction of dried ground corn with ethanol. **The Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 43, p. 103-113, 2002.

CHUNG, S.; OLIVEIRA, C. R. C.; SOUZA, J. G.; AGUIAR, E. M.; BRASIL, D. F. Avaliação físico-química da torta de girassol (*Helianthus annuus* L.) para a utilização na alimentação animal. **Associação Brasileira de Zootecnia**, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Conjuntura Mensal do Girassol**. Brasília, Abril, 2014.

CORREA, H. A. M. **Compostos bioativos de extratos naturais: Combinação de processos de extração com dióxido de carbono supercrítico, etanol e água**. Tese (doutorado), Unicamp, 2010.

CORREIA, I. M. S. **Extração e pirólise do óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) visando a produção de biocombustíveis**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2009.

CORSINI, M. S.; JORGE, N. Alterações oxidativas em óleos de algodão, girassol e palma utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 25-34, 2006.

CRAPISTE, G. H.; BREVEDAN, M. I. V.; CARELLI, A. Oxidation of sunflower oil during storage. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 76, n. 12, p. 1437-1443, 1999.

CRUZ, C. H. B.; FRAGNITO, H. L.; COSTA, I. F.; MELLO, B. A. **Guia para física experimental: caderno de laboratório, gráficos e erros** – Instituto de Física, Unicamp. Campinas: IFGW, 1997.

DEL- RÉ, P. V.; JORGE, N. Comportamento de óleos vegetais em frituras descontínuas de produtos pré-fritos congelados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 56-63, 2006.

DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; LEMA, J. M. Eliminación de ácido clorogénico durante el procesado acuoso de las almendras de girassol. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, p.235-242, 1993.

EMBRAPA – **Tecnologias da produção de girassol**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/producaogirassol/>. Acesso em: 18 mar. 2014.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves**. Concórdia: Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, 1991, 3. ed., v. 19, 97 p.

ESCAMILLA- TREVINÕ, L.L. et al. Early lignin pathway enzymes and routes to chlorogenic acid in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 84, p. 565–576, 2014.

FARAG, R. S.; EL-BAROTY, G. S.; BASUNY, A. M. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii) on the stability of sunflower oil. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, p. 81-87, 2003.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters. **Science Agriculture**, Ankara, v. 62, n.3, p 291-295, 2005.

FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 106-111, 2009.

FIRESTONE, D. **Physical and chemical characteristics of oils, fats, and waxes**. Washington, D.C: AOCS Press, 2006. 2nd ed.

GANDHI, A. P. et al. Studies on alternative solvents for the extraction of oil soybean. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, p. 369-375, 2003.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 229-235, 2007.

GARCIA, J. S. A. et al. Digestibilidade aparente do farelo de girassol na alimentação de bovinos leiteiros em fase de crescimento. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v. 5, n. 3, p. 123-129, 2004.

GENEAU-SBARTAI, C., LEYRIS, J., SILVESTRE, F., RIGAL, L. Sunflower cake as a natural composite: composition and plastic properties. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 56, p.11198 -11208, 2008.

GONÇALVES, N. R. **Qualidade de sementes de girassol no beneficiamento**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

GONZÁLEZ-PEREZ, K. B. M. et al. Isolation and characterization of undenatured chlorogenic acid free sunflower (*Helianthus annuus*) protein. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 50, p. 1713-1719, 2002.

GROMPONE, M. A. **Sunflower oil**. Bailey's Industrial oil & Fat Products. In: SHAHIDI, 2005. 2(14): 655-730.

GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P.; OLIVEIRA, A. C.; ANDRADE, C. A. Adaptability and stability of sunflower genotypes from the states of Rio Grande do Sul and Paraná. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 5, p. 1195-1204, 2009.

HAMED, S. F.; WAGDY, S. M.; MEGAHED, M. G. Chemical Characteristics and Antioxidant Capacity of Egyptian and Chinese Sunflower Seeds: A Case Study. **Life Science Journal**, Nova Iorque, v. 2, p. 320- 329, 2012.

HARRIS, W. D.; HAYWARD, J. W. Isopropanol as a solvent for extraction of cottonseed oil. III. The use of recycling to effect solvent. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 2, p. 273-275, 1950.

JOHNSON, L. A. LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.

KARAMAC, M.; KOSINSKA, A.; ESTRELLA, I.; HERNANDEZ, T.; DUENAS, M. Antioxidant activity of phenolic compounds identified in sunflower seeds. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 235, p. 221-230, 2012.

KARTHIKESAN, K.; PARI, L. MENON, V. P. Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 18, n. 8, p. 643–650, 2010.

KARUNAJEEWA, H., THAN, S. H., ABU-SEREWA, S. Sunflower seed meal, sunflower oil and full-fat sunflower seeds, hulls and kernels for laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 26, p. 45-54, 1989.

KEMPER, T. G. Oil Extraction. In: SHAHIDI, F. (Ed.) **Bailey's industrial oil and fat products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. 6th ed., v.5., Cap. 2, p. 57-98.

LAUBLI, M. W.; BRUTTEL, P. A. Stability of fats and oils: Comparison between the active oxygen method (AOCS Cd12-57) and the Rancimat method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 63, n. 6, p. 792-795, 1986.

LEAL, M. R.; VALLE, T. L.; FELTAN, J. C.; CARVALHO, C. R. **Outras matérias primas para a produção de etanol**. Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade. São Paulo, Brasil, Editora: In: Barbosa L. A., 2010, Cap. 17, p. 519.

LEITE, R. M. V. B. C. et al. **Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima**. Londrina. Editora: Londrina PR, 2007, v. 78, 2007.

LEUNG, J., FENTON, T. W., CLANDININ, D. R. Phenolic compounds of sunflower flour. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, p. 1386-1388, 1981.

LIMA, H. F. et al. Farelo de girassol na alimentação de aves label rouge em crescimento no ambiente equatorial. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 56-60, 2013.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, Nova Iorque, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARCILLA, A.; RUIZ, F.; GARCÍA, A. N. Liquid-liquid-solid equilibria of the quaternary system water-ethanol-acetone-sodium chloride at 25 °C. **Fluid Phase Equilibria**, Amsterdam, v. 112, p. 273-289, 1995.

MARINOVA, E. M.; TONEVA, A.; YANISHLIEVA, N. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. **Food Chemistry**, London, v. 114, p. 1498–1502, 2009.

MÁRQUEZ- RUIZ, G.; MARTÍN-POLVILLO, M.; VELASCO, J.; DOBARGANES, C. Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 110, p. 465-471, 2008.

MARZINEK, J.; DE-PAULA, C. O.; OLIVEIRA, D. M. T. Cypsela or archene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 549-553, 2008.

MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetros bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*coffea arábica* L.) **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 239-243, 2005.

MENEZES, H. C. **Variação dos monoisômeros e diisômeros do ácido cafeoilquínico com maturação de café**. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, 1994.

MIKOLAJCZAK, K. L.; SMITH, C. R., JR.; WOLFF, I. A. Phenolic and sugar components of Armavirec variety sunflower (*Helianthus annuus*) seed meal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 18, p. 27-32, 1970.

MIYASHITA, K., T. TAKAGI. Study on the Oxidative Rate and Prooxidant Activity of Free Fatty Acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 63, p. 1380–1384, 1986.

MOHAMMAD, A. S.; SOSULSKI, F. W.; KERNAN, J. Phenolic Constituents in Sunflower Flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 22, n. 4, p. 572-574, 1974.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, p. 145-171, 2001.

NARDINI, M. et al. Analytical nutritional and clinical methods detection of bound phenolic acids: prevention by ascorbic and ethylenediaminetetraacetic acid of degradation of phenolic acids during alkaline hydrolysis. **Food Chemistry**, London, v. 79, p. 119-124, 2002.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L. C. Distribuição de isômeros de ácidos clorogênicos e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 296-299, 2003.

NORUM, K. R. Dietary fat and blood lipids. **Nutrition Reviews**, Nova Iorque, v. 50, p. 430-437, 1992.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M. H. (1ª Ed.) **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Manole, 2006.

OLIVEIRA, M. D. et al. Composição bromatológica e digestibilidade ruminal in vitro de concentrados contendo diferentes níveis de torta de girassol. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 4, p. 629-638, 2007.

OLIVEIRA, R. C.; BARROS, S. T. D.; GIMENEZ, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 117, p. 458-463, 2013.

OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, V.; ARACAVA, K. K.; RODRIGUES, C. E. C. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol - A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 90, p. 22-31, 2012.

PAPAS, A. M. Determinants of antioxidant status in humans. **Lipids**, Champaign, v. 31, p. 77-82, 1996.

PEDREIRO, G. E. G. **Torta de girassol na alimentação de matrizes suínas em gestação e lactação**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, 2007.

PEDROSA, M. M. et al. Determination of caffeic and chlorogenic acids and their derivatives in different sunflower seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p. 459-464, 2000.

PEREZ, E. E.; CARELLI, A. A.; CRAPISTE, H. G. Chemical characterization of Oils and meals from wild sunflower (*Helianthus petiolaris* Nutt). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 81, n. 3, p. 245-249, 2004.

PORTO, W. S., CARVALHO, C. G. P., PINTO, R. J. B. Adaptability and stability as selection criteria for sunflower genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Pinheiros, v. 42, n. 4, p. 491-499, 2007.

RAEMY, A.; FROELICHER, I.; LOELIGER, J. Oxidation of lipids studied by isothermal heat flux calorimetry. **Thermochimica Acta**. Amsterdam, v. 114, p. 159-164, 1987.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**. São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAO, R. K.; ARNOLD, L. K. Alcoholic Extraction of Vegetables Oils. Solubility of Vegetables Oils in Aqueous 2-Propanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 34, p. 401-404, 1957.

RAO, R. K.; KRISHNA, M. G.; ZAHEER, S. H.; ARNOLD, L. K. Alcoholic extraction of vegetable oils. I. Solubilities of cottonseed, peanut, sesame, and soybean oils in aqueous ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 32, p. 420-423, 1955.

REGITANO-d'ARCE, M. A. B. **Ensaios da extração de óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) com álcool etílico**. Dissertação (mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1985.

REGITANO-d'ARCE, M. A. B. **Extração de Óleo de Girassol com Etanol: Cinética, ácido clorogênico, fração insaponificável**. Tese (doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

REICHARDT, C. Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. **Chemical Reviews**, Washington, v. 94, p. 2319-2358, 1994.

REISHE, D. W.; LILLIARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Em **Antioxidants**; Akoh, C. C.; Min, D. B., eds.; Marcel Dekker: New York, 1997, p. 423.

ROBERTSON, J. A., Sunflowers: America's Neglected Crop. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 49, p. 239-244, 1972.

RODRIGUES, C. E. C. **Utilização de solvente biorenovável nos processos de extração e desacidificação de óleos vegetais**. Tese (livre docência). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP; 2011.

RODRIGUES, C. E. C.; ARACAVA, K. K.; ABREU, F. N. Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, p. 2407–2414, 2010.

RODRIGUES, C. E. C.; OLIVEIRA, R. Response surface methodology applied to the analysis of rice bran oil extraction process with ethanol. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, p. 813–820, 2010.

ROSA, P. M.; ANTONIASSI, R.; GONÇALVES, E. B; BIZZO, H. R.; SILVA, A. J. Extraction of chlorogenic acid from defatted sunflower meal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.4, p.719-724, 2011.

ROSSI, M.; PERI, C.; RIVA, M. Produzione di farine proteiche da girassole. II. Estrazione combinata dell'olio e dell'acido clorogenico. **Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, Milano, v. 57, n. 11, p. 509-512, 1980.

SALGADO, P. R. et al. Exploration of the antioxidant and antimicrobial capacity of two sunflower protein concentrate films with naturally present phenolic compounds. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 29, p. 374-381, 2012.

SANTOS, E. O. **Avaliação da estabilidade oxidativa de óleo de soja contendo concentração contrastantes de ácido linoleico durante o processamento**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

SAUDÁVEL ALIMENTAÇÃO (2014). Disponível em: http://www.saudavelalimentacao.com/sementes_de_girassol.php. Acesso em 13 maio 2014.

SAWADA, M. M. **Estudo da viabilidade técnica da substituição de hexano por etanol no processo de extração de óleo de soja: cinética de extração e índices de qualidade**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SAWADA, M. M., VENANCIO, L. L., TODA, T. A., RODRIGUES, C. E. C. Effects of different alcoholic extraction conditions on soybean oil yield, fatty acid composition and protein solubility of defatted meal. **Food Research International**, Barking, v. 62, p. 662-670, 2014.

SEN, M.; BHATTACHARYYA, D. K. Nutritional quality of sunflower seed protein fraction extracted with isopropanol. **Plant foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 55, p. 265-278, 2000.

SETH, S.; AGRAWAL, Y. C.; GHOSH, P. K.; JAYAS, D. C.; SINGH, B. P. N. Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvents. **Biosystems Engineering**, London, v. 97, p. 209-217, 2007.

SIGMA- ALDRICH (2015). Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/brazil.html>. Acesso em 10 jun. 2015.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; LEMA, J. M. Ethanol extraction of polyphenols in an immersion extractor- effect of pulsing flow. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 73, n. 9, p. 1121-1125, 1996.

SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; LEMA, J. M. Ethanolic Extraction of sunflower oil in a pulsing extractor. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 75, n. 6, p. 753-754, 1998.

SMITH, A. K., JOHNSON, V.L. Sunflower seed protein. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 25, p. 399-406, 1948.

SOYSTATS. Disponível em: <http://soystats.com/soybean-oil-u-s-vegetable-oils-consumption/> > Acesso em: 15 out 2014.

SRIPAD, G.; NARASINGA RAO, M. S. Effect of methods to remove polyphenols from sunflower meal on the physicochemical properties of the proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 35, p. 962-967, 1987.

TASAN, M.; DEMIRCI, M. Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, p. 251-254, 2005.

TASAN, M.; GECGEL, U.; DEMIRCI, M. Effects of storage and industrial oilseed extraction methods on the quality and stability characteristics of crude sunflower oil (*Helianthus annuus* L.) **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 62, n. 4, p. 389-398, 2011.

TAVERNARI, F. C. et al. Farelo de girassol: Composição e utilização na alimentação de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 5, n.5, p. 638-647, 2008.

TELLES, M. M. **Caracterização dos grãos, torta e óleo de três variedades de girassol (*Helianthus annuus* L.) e estabilidade do óleo bruto**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

TIR, R.; DUTTA, P. C.; BADJAH-HADJ-AHMED, A. Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 114, p. 1427–1438, 2012.

TOPALLAR, H.; BAYRAK, Y.; ISÇAN, M. A Kinetic Study on the Autoxidation of Sunflowerseed Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Chicago, v. 74 n. 10, p. 1323-1327, 1997.

TURATTI, J. M.; PORTAS, A. A. **Produção artesanal de óleo de girassol**. CATI-DSMM (Coordenadoria de Assistência Técnica Local), Campinas, SP, 2001.

UNGARO, M. R. G. **Cultura do girassol**. Campinas: Instituto Agrônomo de São Paulo. São Paulo, Boletim Técnico, vol. 188, 2000.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1999.

VENKTESH, A.; PRAKASH, V. Low molecular weight proteins from sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed: effect of acidic butanol treatment on the physicochemical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, p. 193-198, 1993.

WAKELYN, P. J.; WAN, P. J. Solvent extraction to obtain edible oil products. In: AKOH, C. C. (Ed.) **Handbook of functional lipids**. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WARNER, K.; ORR, P.; GLYNN, M. Effect of fatty acid composition of oils on flavor and stability of fried foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 74, n. 4, p. 347-356, 1997.

WEISZ, G. M.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MS. **Food Chemistry**, London, v.115, p. 758–765, 2009.

WINKLER - MOSER, J.; BREYER, L. Composition and oxidative stability of crude oil extracts of corn germ and distillers grains. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 572-578, 2011.

WISNIAK, J.; HILLET, J.; KATZ, O. Holdup and Extraction Characteristics of Jojoba Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 64, p. 1352-1354, 1987.

XIONG, H. P.; YANG, W. L.; ZHANG, Y. S.; & XIAO, W. J. Recent advances in natural plant antioxidants. **Natural Product Research and Development**, v. 13, n. 5, p. 75–79, 2001.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; MAREKOV, I. N.; GORDON, M. Effect of an Ethanol Extract from Summer Savory (*Satureja hortensis* L) on the Stability of Sunflower Oil at Frying Temperature. **Journal Science Food Agriculture**, v. 74, p. 524-530, 1997.

ZANG, Y. et al. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. **Food Chemistry**, London, v. 118, p. 656-662, 2010.

ZENEBON, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. – Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p.148-154. -1ª Edição Digital.

ZHANG, F.; RHEE, K. C.; KOSEOUGLU, S. S. Isopropyl alcohol extraction of cottonseed collets efficiency and performance. **Journal of Food Lipids**, v. 18, n. 2, p. 147-160, 2002.

9. APÊNDICE

Apêndice A.

Apêndice A. Curva de calibração de mensuração dos ácidos clorogênicos.

Abs (nm): $0,0368 \times \text{Conc } (\mu\text{g/g})$

Coeficiente de determinação $R^2 = 0,99$